

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL**



**DESARROLLO DE NUEVOS DISPOSITIVOS  
POTENCIOMÉTRICOS PARA EL ANÁLISIS  
DE ESPECIES DE CROMO**

**TESIS DOCTORAL**

**RAÚL ALBERTO SÁNCHEZ MORENO**  
**Madrid, Septiembre de 2010**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL**



**DESARROLLO DE NUEVOS DISPOSITIVOS  
POTENCIOMÉTRICOS PARA EL ANÁLISIS  
DE ESPECIES DE CROMO**

**Memoria que presenta el licenciado**

**RAÚL ALBERTO SÁNCHEZ MORENO**

**para optar al grado de Doctor en Ciencias (Químicas)**







FACULTAD DE  
CIENCIAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID



Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental  
Universidad Autónoma de Madrid

**JESUS RODRIGUEZ PROCOPIO**, DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS,  
CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD EN EL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE MADRID Y

**MARIA JESÚS GISMERA GARCÍA**, DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS Y  
PROFESORA TITULAR INTERINA EN EL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
ANALÍTICA Y ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DE MADRID

**INFORMAN:**

Que el trabajo descrito en la presente memoria, titulado “**DESARROLLO DE NUEVOS DISPOSITIVOS POTENCIOMÉTRICOS PARA EL ANÁLISIS DE ESPECIES DE CROMO**” ha sido realizado en el Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental de la Universidad Autónoma de Madrid. También hacen constar que el trabajo descrito en ella reúne, en su opinión, todos los requisitos para su defensa y aprobación, por lo que, como directores del trabajo de investigación, **autorizan su presentación** para que se defienda como Tesis Doctoral.

Y para que conste firma el presente documento en Madrid a 2 de septiembre de dos mil diez.

M<sup>a</sup> Jesús Gismera García

Fdo. Jesús Rodríguez Procopio



*Para todos aquellos que creen en la investigación como el camino  
y no como un objetivo.*



Durante el desarrollo de esta tesis he tenido la oportunidad de conocer a muchas personas que, en mayor o menor medida, han influido en la consecución del trabajo. De todas ellas guardo un grato recuerdo y en estas páginas quiero agradecer todo lo que han hecho por mí.

En primer lugar debo agradecer a Jesús, el director de mi tesis, que me contagiase su pasión por la ciencia y la investigación en aquella conversación que mantuvimos hace seis años. Una pasión que no ha hecho más que acrecentarse con los años.

Esta tesis no hubiera sido posible sin la ayuda de María Jesús que ha sido el auténtico motor del trabajo en su etapa más complicada. No hay palabras para agradecer toda su dedicación. Y también agradezco a Mayte su permanente disposición a ayudarme en todo lo que ha podido.

Como compañeros del grupo de investigación merece una mención especial David porque fue quien me guió en mis primeros pasos por el laboratorio y con quien mantengo una gran amistad. Y Nika, por todos los buenos momentos vividos durante la licenciatura y con quien he podido compartir el sueño que teníamos de investigar en este departamento. Pilar, también, que tantos días de trabajo ha amenizado con interesantes discusiones sobre ciencia y anécdotas entretenidas. Sin olvidar a otros compañeros como Teresa, Irene y Mauro con quien he tenido la suerte de trabajar.

En el laboratorio he coincidido con muchas personas que han hecho de esta etapa de mi vida una experiencia maravillosa y cuya amistad espero mantener muchos años. A Mónica quiero agradecerla el enorme apoyo tanto científico como emocional que me ha prestado cuando más lo necesitaba. A Tania por su capacidad para hacerme sonreír por difícil que fuese el momento por el que estuviera pasando. A Carmina, Laura y Mamen por todos los ánimos que me han dado y por ayudar a hacer del laboratorio un lugar aún más agradable.

Algunos compañeros compartieron conmigo menos tiempo en el laboratorio pero no puedo dejar de mencionarlos como son Patri, Juanan, Vero o Álvaro de quienes conservaré muy gratos recuerdos.

Me gustaría que figurasen en estas páginas todos los amigos que conocí durante la carrera y que han influido en modo alguno en mi trabajo como han sido Alberto, Sandra, Samuel, Ángel, Espe, Sara, Marina o Diego. Gracias también a ellos.

A mi familia le agradezco, sobre todo, los ánimos y el apoyo que tuve al elegir la carrera que quería estudiar y lo mucho que me han facilitado las cosas en aquella época.

Y a Ana son tantas las cosas que tengo que agradecerla que no sería suficiente con esta tesis. Gracias por la infinita paciencia que has tenido y porque no habría podido terminar este trabajo sin tu ayuda.

Tampoco hubiera tenido lugar esta tesis sin el apoyo financiero que me ha brindado la Comunidad de Madrid por la adjudicación de la beca de Formación de Personal Investigador y también el Ministerio de Ciencia y Tecnología por los proyectos CTQ 2005-07788/BQU y CTQ 2008-06338/BQU.

# ÍNDICE





## ÍNDICE

*Página*

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 SENSORES ELECTROQUÍMICOS .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2 SENSORES POTENCIOMÉTRICOS .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 SENSORES MODIFICADOS DE MATRIZ DE MATERIALES</b>	
<b>COMPUESTOS .....</b>	<b>9</b>
1.3.1 SENSORES MODIFICADOS DE PASTA DE CARBÓN .....	10
1.3.2 SENSORES MODIFICADOS DE MATRIZ POLIMÉRICA RÍGIDA .....	12
1.3.3 ELECTRODOS SERIGRAFIADOS .....	15
<b>1.4 ANALISIS ELECTROQUÍMICO EN CONTINUO .....</b>	<b>17</b>
<b>1.5 INTERÉS ANALÍTICO DEL CROMO .....</b>	<b>20</b>
1.5.1 SENSORES POTENCIOMÉTRICOS DE CROMO .....	23
 <b>2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1 OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
2.1.1 COMPUESTOS SELECCIONADOS COMO MODIFICADORES .....	27
2.1.2 INTERACCIÓN ENTRE DHPE Y CROMO (III) .....	28
2.1.3 INTERACCIÓN ENTRE DPCI Y CROMO (VI) .....	29
<b>2.2 PLAN DE TRABAJO .....</b>	<b>31</b>
2.2.1 DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SENSORES .....	31
2.2.2 MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS EN CONTINUO .....	32
2.2.3 DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE UN BISENSOR .....	33
2.2.4 APLICACIONES .....	33

<b>3. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>35</b>
<b>3.1 REACTIVOS Y APARATOS .....</b>	<b>37</b>
3.1.1 REACTIVOS Y MATERIALES GENERALES .....	37
3.1.2 MATERIALES PARA LA CONSTRUCCIÓN DE ELECTRODOS .....	39
3.1.3 INSTRUMENTACIÓN .....	40
3.1.4 COMPONENTES DEL SISTEMA DE ANÁLISIS POTENCIOMÉTRICO EN FLUJO .....	42
<b>3.2 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE LOS ELECTRODOS .....</b>	<b>45</b>
3.2.1 SENSORES DE PASTA DE CARBÓN .....	45
3.2.1.1 Preparación de la pasta de carbón .....	45
3.2.1.2 Diseño y construcción de electrodos de pasta de carbón .....	46
3.2.2 SENSORES DE MATERIALES RÍGIDOS POLIMÉRICOS .....	48
3.2.2.1 Preparación del material rígido polimérico .....	48
3.2.2.2 Diseño y construcción de electrodos de material rígido polimérico ..	49
3.2.2.3 Construcción de sensores modificados con materiales poliméricos rígidos empleando electrodos serigrafiados de carbón .....	50
3.2.2.4 Construcción de bisensores modificados con materiales poliméricos rígidos empleando electrodos serigrafiados.....	52
3.2.3 ACTIVACIÓN Y MANTENIMIENTO DE LOS SENSORES .....	53
<b>3.3 PROCEDIMIENTOS .....</b>	<b>55</b>
3.3.1 MEDIDA DEL POTENCIAL .....	55
3.3.1.1 Medida potenciométricas en estático .....	55
3.3.1.2 Medida potenciométricas en flujo .....	56
3.3.2 VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS .....	56
3.3.2.1 Valoración potenciométrica de cromo (III) con AEDT .....	57

3.3.2.2 Seguimiento potenciométrico de la reacción de hierro (II) con cromo (VI) .....	57
3.3.2.3 Análisis de hierro (II) en un preparado farmacéutico .....	57
3.3.3 DETERMINACIÓN DE CROMO (VI) EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS .....	59
3.3.3.1 Tratamiento de la muestra.....	59
3.3.3.2 Medida espectrofotométrica .....	59
3.3.3.3 Medida potenciométrica .....	60
3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO (VI) Y CROMO (III) EN LIXIVIADOS DE VERTEDEROS .....	61
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	63
4.1 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL SISTEMA DE MEDIDA EN ESTÁTICO.....	65
4.1.1 INFLUENCIA DEL PORCENTAJE DE MODIFICADOR .....	65
4.1.1.1 Sensores de pasta de carbón .....	66
4.1.1.2 Sensores de material polimérico .....	68
4.1.2. CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES .....	74
4.1.2.1 Sensores de pasta de carbón .....	75
4.1.2.2 Sensores de material polimérico .....	79
4.1.3 MECANISMO DEL PROCESO ELECTRÓDICO .....	83
4.1.3.1 Mecanismo de la respuesta a cromo (III) .....	83
4.1.3.2 Mecanismo de la respuesta a cromo (VI) .....	83
4.1.4 INFLUENCIA DEL ELECTROLITO SOPORTE Y DEL pH .....	87
4.1.4.1 Sensores de pasta de carbón .....	88
4.1.4.2 Sensores de material polimérico .....	91

4.1.5 TIEMPO DE RESPUESTA .....	94
4.1.6 CARACTERÍSTICAS DE LA RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES. LÍMITES DE DETECCIÓN .....	97
4.1.7 ESTABILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES. ....	104
4.1.7.1 Sensores de pasta de carbón .....	104
4.1.7.2 Sensores de material polimérico .....	107
4.1.8 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES AL IÓN PRINCIPAL .....	109
4.1.8.1 Selectividad de los sensores de DPCI.....	112
4.1.8.2 Evaluación de la interferencia producida por especies oxidantes .....	115
4.1.8.3 Selectividad de los sensores de DHPE .....	118
4.1.8.4 Selectividad de los sensores a las diferentes especies de cromo .....	119
4.2 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL SISTEMA DE MEDIDA EN FLUJO .....	122
4.2.1 SELECCIÓN INICIAL DE PARÁMETROS DE FLUJO .....	123
4.2.2 OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE MEDIDA EN FLUJO .....	123
4.2.3 CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL ANÁLISIS EN FLUJO .....	127
4.2.4 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES EN UN SISTEMA EN FLUJO .....	132
4.3 ELECTRODOS SERIGRAFIADOS DE CARBÓN CON MATERIAL POLIMÉRICO MODIFICADO .....	134
4.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES .....	135
4.3.2 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES SERIGRAFIADOS MODIFICADOS: MEDIDAS EN ESTÁTICO.....	139
4.3.2.1 Influencia del pH sobre la respuesta del sensor .....	139
4.3.2.2 Tiempo de respuesta .....	141

4.3.2.3 Características de la respuesta potenciométrica. Límites de detección.....	142
4.3.2.4 Selectividad de los sensores.....	144
4.3.2.5 Estabilidad y reproducibilidad de la señal potenciométrica de los sensores. ....	147
4.3.3 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES SERIGRAFIADOS MODIFICADOS: MEDIDAS EN FLUJO .....	149
4.3.3.1 Optimización de los parámetros de medida en flujo.....	150
4.3.3.2 Caracterización de la respuesta potenciométrica para el análisis en flujo.....	153
4.3.3.3 Selectividad de los sensores en un sistema en flujo.....	157
4.4 DISEÑO DE UN SENSOR DUAL BASADO EN UN BISENSOR SERIGRAFIADO.....	159
4.4.1 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DEL SENSOR DUAL: MEDIDA EN DISCONTINUO .....	159
4.4.2 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DEL SENSOR DUAL: MEDIDA EN FLUJO .....	163
4.4.3 CUANTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE CROMO PARA CONCENTRACIONES DE Cr (VI) SUPERIORES A $1.00 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> .....	168
5. APLICACIONES .....	173
5.1 VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS .....	175
5.1.1 VALORACIÓN COMPLEXOMÉTRICA DE CROMO (III) CON AEDT .....	176
5.1.2 SEGUIMIENTO POTENCIOMÉTRICO DEL SISTEMA HIERRO (II) / CROMO (VI).....	179
5.1.2.1 Curvas de valoración .....	179
5.1.2.2 Análisis de hierro (II) en un preparado farmacéutico .....	181

<b>5.2 ANÁLISIS MEDIANTE POTENCIOMETRÍA DIRECTA .....</b>	<b>184</b>
5.2.1 CONTROL DE CROMO (III) EN RESIDUOS INDUSTRIALES MEDIANTE PC-DHPE .....	184
5.2.2 DETERMINACIÓN DE CROMO (VI) EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS UTILIZANDO LOS SENSORES PC-DPCI Y MP-DPC.....	187
5.2.2.1 Análisis espectrofotométrico.....	189
5.2.2.2 Análisis potenciométrico.....	190
5.2.3 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO CON EL SENSOR SP-DPCI .....	191
5.2.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO (VI) Y CROMO (III) EN LIXIVIADOS DE VERTEDERO UTILIZANDO EL SENSOR SP-DPCI Y EL BISENSOR.....	194
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>199</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>205</b>

# 1. INTRODUCCIÓN





El crecimiento de la actividad industrial acontecido a lo largo del siglo pasado es el principal causante de la aparición y acumulación de especies metálicas en el aire, aguas y suelos. La concentración admisible de cada metal en el medio sin que exista una contaminación del mismo dependerá de la especie química en que se encuentre, de sus propiedades y características. Sirva como ejemplo el caso del cromo, que se encuentra presente en medios naturales principalmente como cromo trivalente y cromo hexavalente, estados de oxidación con propiedades muy diferentes. Mientras al cromo trivalente se le considera como oligoelemento esencial en el metabolismo de los seres vivos, el cromo hexavalente presenta una elevada toxicidad y facilidad para penetrar en los organismos por cualquier vía. Por tanto, el contenido en cromo total de una muestra no dará una información adecuada para evaluar la peligrosidad y toxicidad de una muestra.

El desarrollo de técnicas instrumentales de análisis de bajo coste que determinen elementos en concentraciones cada vez más bajas y en un corto espacio de tiempo, y además que sean capaces de diferenciar entre los estados de oxidación de un mismo analito es un área interesante y en expansión dentro de la Química Analítica. La mayoría de técnicas instrumentales de análisis empleadas para la determinación de metales requieren de un instrumental sofisticado y costoso, además de tener que trabajar en ambientes controlados de laboratorio con mano de obra especializada. Como alternativa a estas técnicas se pueden considerar los sensores químicos y, más concretamente, los sensores electroquímicos. Estos últimos pueden incorporarse fácilmente a sistemas de análisis en continuo facilitando el seguimiento y control de las especies analíticas, algo que tiene especial relevancia cuando se trata de analitos con gran capacidad tóxica como, por ejemplo, el cromo hexavalente. Por tanto, el desarrollo de dispositivos electroquímicos que permitan la determinación de los diferentes estados de oxidación del cromo es un tema de actual interés y el objeto del trabajo recogido en esta memoria.

### 1.1 SENSORES ELECTROQUÍMICOS.

Los sensores químicos se han erigido como una alternativa a los equipos analíticos de elevado coste e instrumental sofisticado y especializado que se emplean en la determinación de metales de forma selectiva y para bajas concentraciones. Entre las ventajas aportadas por estos dispositivos cabe destacar la versatilidad que ofrece su diseño y los reducidos costos empleados en su construcción.

Los sensores químicos son un interesante campo de investigación dentro de la química analítica debido a sus características y capacidad para la realización de medidas *in situ*. De acuerdo con la IUPAC se trata de dispositivos integrados capaces de dar lugar a información química específica cuantitativa o semicuantitativa [Nic y col., 2009]. Estos dispositivos, básicamente, constan de dos partes bien diferenciadas: un material de reconocimiento (receptor) que interacciona de forma selectiva con el analito de interés en la muestra y un elemento instrumental (transductor) que convierte esa interacción en una señal medible y procesable. Este sencillo esquema permite que puedan diseñarse sensores de pequeñas dimensiones, bajo coste, fácil utilización y con tiempos de respuesta cortos que den lugar a información a tiempo real. Cuando el transductor utilizado es electroquímico estos dispositivos se denominan sensores electroquímicos.

En los sensores electroquímicos el material receptor debe ser conductor para permitir la comunicación electroquímica con la disolución que contiene el analito además de contener un elemento de reconocimiento que discrimine al analito de la matriz de la disolución. El elemento de reconocimiento se elige en función del analito buscando la mayor selectividad posible, incluso la especificidad en una situación ideal.

Los dispositivos electroquímicos presentan unas características que los hacen adecuados para una gran variedad de aplicaciones. Poseen pequeñas dimensiones, son robustos, de bajo coste y fácilmente integrables en sistemas automáticos de análisis. En comparación con otros tipos de sensores basados en otros principios, presentan un intervalo de respuesta más amplio y unos límites de detección suficientes para la mayor parte de las muestras de interés analítico [Alegret y col., 2004]. Son fácilmente minaturizables, por lo que pueden realizarse medidas en pequeños volúmenes de muestra. Además pueden emplearse tanto en el laboratorio como para hacer medidas “*in situ*”.

## 1.2. SENSORES POTENCIOMÉTRICOS.

Dentro del grupo de los sensores electroquímicos se encuentran el de los sensores potenciométricos. En ellos, la señal primaria, fruto de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento, es un potencial eléctrico, cuya medida se realiza normalmente a intensidad nula y frente a un elemento adicional denominado electrodo de referencia [Alegret y col., 2004]. El gran desarrollo y aceptación de estos sensores se debe a la posibilidad de realizar medidas directas de la concentración de analito o actuar como electrodos indicadores en valoraciones, sin tener en cuenta el color o la turbidez de la muestra, sin afectar a la disolución de análisis, y el hecho de que tales determinaciones requieran equipamientos relativamente baratos y portátiles.

Los sensores potenciométricos basan su funcionamiento en el potencial eléctrico que se genera entre las paredes de la doble capa formada como resultado de la interacción, en ausencia de corriente, entre la membrana del sensor y la disolución con la que está en contacto [Skoog y Leary, 1994]. Para que la información generada tenga validez analítica es necesario que la respuesta del sensor sea selectiva a un determinado analito. Estos sensores pueden considerarse como medias celdas electroquímicas que están formadas por un adecuado sistema electrodo de referencia/disolución interna de referencia, separado de la muestra por la membrana selectiva al ión [Koryta y Stulik, 1983].

Para estos sistemas de detección, la relación entre el potencial eléctrico y la actividad de la especie de interés se puede expresar, en muchos casos, mediante la *ecuación de Nikolsky-Eisenman* (ecuación 1.1). Esta ecuación incluye un término que considera el efecto que las posibles interferencias pueden tener en el potencial medido y viene dada por la expresión [Martínez Fábregas y Alegret, 1994]:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \left( a_i + \sum_{j=1}^{j=m} K_{i,j}^{pot} a_j^{\frac{z_i}{z_j}} \right) \quad (1.1)$$

Donde  $E$  es el potencial de la membrana,  $E^0$  es una constante que depende de las características físicas de la membrana,  $R$  es la constante de los gases,  $T$  es la temperatura,  $n$  la carga del ión,  $F$  es la constante de Faraday,  $a_i$  es la actividad de la especie de interés,  $a_j$  es la actividad del posible interferente,  $z_i$  y  $z_j$  son las cargas de los iones  $i$  (el analito) y  $j$  (el interferente) y, finalmente,  $K^{pot}_{ij}$  que es la constante de selectividad potenciométrica, que da una idea del peso de la interferencia de los iones  $j$  sobre el analito  $i$ .

Si el sensor es realmente selectivo, esas  $K^{pot}_{ij}$  serán suficientemente pequeñas de manera que el potencial medido en la membrana se debe básicamente a la actividad del analito y, por tanto, puede relacionarse con su actividad en la disolución de medida.

Durante muchos años las investigaciones en el campo de los sensores potenciométricos se han centrado en la búsqueda de materiales más adecuados para la obtención de membranas selectivas. La membrana es la parte que confiere selectividad al dispositivo debido a que determina el ión al que es sensible el sensor. En la membrana potenciométrica se produce el intercambio entre los iones de la disolución de la muestra y la fase sólida dando lugar a una variación en la carga eléctrica de la propia membrana y por tanto una diferencia de potencial en la interfase existente entre la disolución externa y la membrana. Esta diferencia de potencial es función de la actividad del ión para el que se ha diseñado la membrana potenciométrica siendo proporcional al logaritmo de la actividad siempre que se mantengan constantes el resto de las diferencias de potencial del circuito eléctrico. Para medir esa diferencia de potencial se utiliza un electrodo de referencia externo adecuado en cada caso y un voltímetro, completando así la celda electroquímica [Alegret y col., 2004; Koryta y Stulik, 1983; Moody y Thomas, 1971].

Con la finalidad de otorgar a los sensores de mayor robustez la disolución de referencia interna se puede sustituir por un contacto óhmico (metálico) [Rajeshwar e Ibanez, 1997]. El desarrollo de sensores potenciométricos con contacto sólido interno permite el diseño y construcción con relativa sencillez de sensores de diferentes tamaños y en diferentes configuraciones. En los últimos años se han incrementado las investigaciones en este campo, principalmente con la finalidad de miniaturizar los dispositivos, reduciendo de esta manera el volumen de muestra necesario para la

determinación y minimizando así el consumo de reactivos [Bobacka y col., 2008; Bakker y Pretsch, 2007; Pretsch, 2007].

Los sensores potenciométricos pueden clasificarse según el tipo de membrana que soporta al material selectivo. Cualquiera que sea su naturaleza las membranas deben cumplir, idealmente en las condiciones de medida, las siguientes propiedades: mínima solubilidad, conductividad eléctrica y respuesta selectiva al analito [Skoog y Leary, 1994].

Existen dos tipos básicos de membranas, cristalinas y no cristalinas. La membrana sólida cristalina está constituida por compuestos iónicos monocristalinos, pudiendo ser homogénea cuando está constituida por un único compuesto o heterogénea cuando se trata de una mezcla de los mismos. Este tipo de membranas se construyen empleando sales inorgánicas y se caracterizan por contener iones fijos de una determinada carga e iones móviles de la carga opuesta. El electrodo selectivo de ión fluoruro construido con una membrana de  $\text{LaF}_3$  dopado con Eu es un buen ejemplo de este tipo de sensores.

Los sensores de membrana no cristalina están formados por una matriz soporte que contiene sitios activos capaces de coordinar de forma selectiva con el analito en la interfase entre la membrana y la disolución de medida. La sustancia activa que determina la selectividad al analito se denomina ionóforo y la variedad existente permite la construcción de una amplia gama de electrodos selectivos a iones. La naturaleza del soporte utilizado da lugar a diferentes clases de membranas, pudiendo dividirse en membranas líquidas o de portador móvil como, por ejemplo, el electrodo selectivo a ión calcio construido con dialquilfosfato de calcio inmovilizado en membrana de cloruro de polivinilo (PVC en adelante) [Moody y col., 1970] y membranas de matriz rígida como el electrodo de vidrio selectivo a los protones.

En los sensores potenciométricos de membrana líquida un líquido inmiscible queda retenido, impregnado o inmovilizado en un soporte polimérico siendo capaz de interaccionar químicamente con la especie de interés. Para la preparación de las membranas de portador móvil, la metodología más utilizada consiste en la preparación de una mezcla de ionóforo, PVC en polvo y un material plastificante en un disolvente orgánico volátil. Como resultado se obtiene una membrana flexible que separa la disolución de la muestra de la disolución interna [Moody y col., 1970]. Las investigaciones en el desarrollo de este tipo de membranas se centran en el empleo de

nuevos materiales y la utilización de matrices poliméricas. Así, se han utilizado como alternativa al PVC la goma de silicona o epoxi poliuretanos que mejoran la adherencia de la membrana al cuerpo del electrodo y reducen la adsorción de moléculas en la superficie del sensor [Dürselen y col., 1998]. También se han diseñado sensores potenciométricos con polisulfona, un material biocompatible que permite expandir el desarrollo de sensores para analitos de interés biológico [González Bellavista y col., 2006].

Entre los sensores desarrollados con membranas de PVC para la detección de metales nos encontramos electrodos para la determinación de mercurio donde utilizan como agentes selectivos complejos de dicho metal [Ghaedi y col., 2005], electrodos selectivos a cadmio utilizando bases de Schiff como ionóforos [Mashhadizadeh y col., 2005], sensores para la determinación de cobre en el que compuestos tipo cresol otorgan la selectividad al analito [Fakhari y col., 2005], sensores de plomo empleando como ionóforos también bases de Schiff [Jeong y col., 2005], electrodos para determinar cobalto [Singh, A. K. y col., 2009] o bario [Ma y col., 2009] donde se utilizan macrociclos como agentes selectivos, electrodos selectivos a plata en los que se emplean calixarenos como discriminantes en la membrana [Erol y col., 2009] o sensores para la determinación de platino que usan triazenos como agentes selectivos [Gholivand y col., 2009] por citar algunos ejemplos. También se han diseñado sensores para la determinación de cromo (III), basados en bases de Schiff como agentes quelatantes de la membrana del sensor [Singh, A. K. y col., 2007], y cromo (VI), contruidos empleando éteres corona como ionóforos [Singh, L. P. y col., 2005].

Este tipo de electrodos selectivos de matriz líquida con disolución de referencia interna son adecuados para muchas aplicaciones pero presentan inconvenientes cuando se intentan utilizar en un sistema de análisis en continuo [Khaled y col., 2008]. En cambio, los electrodos que sustituyen esta disolución interna por un contacto sólido son más robustos, tienen mayor tiempo de vida útil y son más fácilmente miniaturizables [Bobacka y col., 2008; Bakker y Pretsch, 2007; Pretsch, 2007] por lo que se recomienda su empleo en este tipo de medidas.

### 1.3. SENSORES MODIFICADOS DE MATRIZ DE MATERIALES COMPUESTOS.

Los sensores potenciométricos de matriz de materiales compuestos ofrecen propiedades interesantes a nivel electroquímico, físico y económico. Se trata de electrodos de matriz rígida y contacto interno sólido que se han empleado tanto en el análisis de cationes como en el de aniones. Su robustez mecánica y la versatilidad del diseño del cuerpo del sensor permite su aplicación en sistemas de análisis en flujo [Barek y col., 2007; Navratil y Barek, 2009]. Dentro de este grupo de sensores se encuentran los sensores de membrana rígida polimérica y los electrodos de pasta de carbón [Ruschan y col., 1989].

Se denomina material compuesto (*composite material*) a aquel formado mezclando dos o más materiales distintos de modo que la mezcla presente diferentes características físicas, químicas y mecánicas que las de los constituyentes individuales. Cuando el material compuesto está formado por una fase conductora y otra aislante o poco conductora se pueden clasificar en función de la naturaleza del material conductor (platino, oro, carbón, etc.). Otra posible clasificación de los materiales compuestos es en función de la ordenación de las partículas en la estructura del material obteniéndose principalmente dos grupos, materiales compuestos con partículas dispersas en la matriz y materiales compuestos con partículas agrupadas en zonas claramente definidas [Céspedes y col., 1996]. El material resultante presentará diferentes propiedades físicas y químicas en función del tipo de ordenación de sus partículas. La obtención de materiales compuestos donde las partículas del conductor se encuentren ordenadas en determinadas zonas de su estructura sigue procedimientos más complejos que, de forma general, consisten en aplicar presión a la mezcla durante el proceso de polimerización [Liberti y Morgia, 1985]. Las dificultades que conlleva este tipo de procesado hacen que sea un sistema menos utilizado que la fabricación de materiales compuestos con partículas homogéneamente dispersas en la matriz. Este último tipo de materiales compuestos son los utilizados para el desarrollo de los sensores de pasta de carbón y de matriz polimérica rígida descritos en esta memoria.

### 1.3.1. SENSORES MODIFICADOS DE PASTA DE CARBÓN.

Desde la descripción en 1958 de la pasta de carbón [Adams, 1958] hasta nuestros días, existen numerosos trabajos donde se describe la preparación de distintos tipos de pasta de carbón para el desarrollo de electrodos empleados tanto en técnicas potenciométricas como voltamperométricas [Svancaray col., 2009-A; Svancara y col., 2009-B]. Aunque los sensores de pasta de carbón presentan buenas propiedades electroquímicas son muy poco selectivos.

Las interferencias que se producen en la detección de un analito y que son debidas a los componentes de la matriz de la muestra hacen que, antes de realizar el análisis, muchas veces se lleven a cabo pretratamientos previos de preconcentración o separación de los analitos. La necesidad creciente de simplificar y reducir las etapas experimentales en el proceso de análisis, eliminando las etapas que incluyen tratamientos específicos de separación, supuso el nacimiento en los años 70 de los sensores modificados [Mesarić y Dahmen, 1973]. Desde que surgieron, las investigaciones sobre las características de la superficie de estos sensores y sus aplicaciones es una de las áreas de investigación más activas en la electroquímica y química analítica desde finales del siglo pasado [Gao y col., 1991]. La IUPAC los define como sensores obtenidos por la modificación de la superficie o de la matriz del material del electrodo con un reactivo seleccionado que gobierna sus propiedades electroquímicas [IUPAC, 1998]. Las investigaciones se centran en la búsqueda de una estructura y composición de la superficie del electrodo que se ajuste a las necesidades analíticas de sensibilidad y selectividad requeridas. De esta forma se obtienen sensores contruidos a medida de la aplicación específica.

Para el desarrollo de estos electrodos modificados hay que seleccionar, por un lado, la sustancia que ejerce de modificador, puesto que este reactivo químico, que queda inmovilizado en la superficie, es el que caracteriza la respuesta potenciométrica del sensor al analito. Por otro lado, debe considerarse la naturaleza de la matriz en la que estará inmovilizado el mencionado agente, ya que tanto la conductividad como la estabilidad de la respuesta electroquímica van a depender de ella. Por último, en función de la aplicación para la que se diseña el sensor se construye con una determinada forma y tamaño.

El método para preparar la pasta de carbón modificada consiste en la mezcla homogénea de sus componentes: el modificador que actúa como especie



selectiva al analito, polvo de carbón o grafito para otorgar conductividad a la matriz y un aglutinante para dar consistencia a la mezcla, utilizándose a tal efecto aceite de parafina o similares compuestos. La pasta resultante se empaqueta dentro de la estructura del electrodo de tal forma que la parte superficial de la misma pueda estar en contacto con la disolución. Esta estructura dependerá de la aplicación que pretenda darse al sensor, aunque suele tratarse de formas tubulares. Finalmente es equipada con un contacto eléctrico sólido.

Los sensores así contruidos presentan menores resistencias óhmicas que los contruidos empleando membranas líquidas poliméricas, como los sensores de PVC [Abbas y Mostafa, 2003; Jezkova y col., 1997]. Además, la presencia del aglutinante disminuye la alta corriente residual del polvo de carbón. Los electrodos de pasta de carbón presentan una respuesta electroquímica muy estable y reproducible [Murray, 1984] ya que la superficie de la pasta puede sustituirse, quedando renovada la superficie del sensor y restablecida la respuesta. Este tipo de electrodos se encuentran en diversas aplicaciones como son la electrocatálisis, preconcentración y permeabilidad selectivas y determinaciones potenciométricas [Gao y col., 1991; Jezkova y col., 1997; Wang, J. y col., 1991; Labuda y Hudakova, 1997; Labuda y col., 1997; Wang, C. y col., 1999]. Destaca, principalmente, el empleo de estos sensores en la preconcentración del analito de la disolución de la muestra por deposición química en la superficie del electrodo y su posterior análisis por voltamperometría en un electrolito soporte [Wang, C. y col., 1999], donde se consiguen mejores sensibilidades y selectividades, aunque están fuertemente afectadas por las condiciones experimentales. En estas aplicaciones suelen utilizarse reactivos complejantes como modificadores químicos [Baldwin y col., 1986; Cai y Khoo, 1995; Mousavi y col., 2001; Safavi y col., 1996; Alemu y Chandravanshi, 1998; Ruiperez y col., 2002; Colilla y col., 2005-A] y cambiadores iónicos [Wang, J. y col., 1984; Ortiz-Viana y col., 1999].

La primera aplicación de este tipo de electrodo en el campo de los sensores potenciométricos fue el electrodo sensible a iones plata y haluros descrito por Mesaric y Dahmen [Mesaric y Dahmen, 1973]. Posteriormente ha habido un gran desarrollo en este campo destacándose su uso en determinaciones potenciométricas de metales como cobre usando ácido tio y ditio salicílico como modificadores [Gismera y col., 2003], mercurio con tetraetil tiuram disulfuro [Gismera y col., 2004], litio con un óxido de manganeso [Teixeira y col., 2004], níquel con un diaminobenceno [Gonzalez y col., 1997], plomo con ácido ditiodi y mercapto benzoico [Gismera y col., 2006],

plata con una base de Schiff [Mashhadizadeh y col., 2006] y talio con cloruro de cetilpiridinio [Vytras y col., 2000]. A su vez, se han desarrollado sensores para aniones. Así se han analizado yoduro utilizando cetiltrimetilamonio como agente quelatante [Abbas, 2003], bromuro con un complejo de mercurio con piridina [Shamsipur y col., 2005-A] y percloratos y tetrafluoro boratos con cloruro de cetilpiridinio, de nuevo [Jezkova y col., 1997]. También se han empleado como biosensores potenciométricos para cisteína [Amini y col., 2003], ácido ascórbico [Hu y Leng, 1995] y antihistamínicos [Zayed, 2004].

Las características que han convertido a los sensores potenciométricos de pasta de carbón modificada en el objeto de investigaciones tan relevantes son tiempos de respuesta cortos, límites de detección relativamente bajos, ausencia del llamado efecto memoria, tiempos cortos de activación, estabilidad y alta selectividad al analito de interés. Si además tenemos en cuenta la fácil construcción y la versatilidad de su diseño nos encontramos ante un dispositivo de gran interés analítico.

#### 1.3.2. SENSORES MODIFICADOS DE MATRIZ RÍGIDA POLIMÉRICA.

Para la construcción de los sensores de matriz rígida polimérica se mezcla un material conductor, generalmente polvo de grafito, con un material polimérico adecuado de manera que la mezcla sea suficientemente conductora [Tallman y Peterson, 1990]. De esta forma se aúna la conductividad del carbón con la rigidez de polímeros como las resinas epoxi, el teflón o el metacrilato.

Las propiedades eléctricas del material resultante dependen de la naturaleza de cada uno de los componentes, de las proporciones en que éstos se encuentren y de la distribución en que se ordenen. La resistencia eléctrica viene determinada por la ordenación de las partículas conductoras en la matriz y la capacidad aislante del polímero. A principios de los años 90, Moskvina y col. describen lo que denominan *curvas de percolación* en las que se representa el logaritmo de la resistencia eléctrica del material en función del porcentaje de conductor empleado en la mezcla [Godovski y col., 1993]. La finalidad de estas curvas es deducir el porcentaje mínimo de conductor necesario que asegure conductividad en el material polimérico resultante. Los resultados conducen a la preparación de materiales poliméricos que

contengan entre un 5 y un 50 % de conductor [Martorell y col., 1994; Cox y Lewinski, 1994; Skladal y Mascini, 1992; Alegret y col., 1996].

Por tanto, para la preparación de sensores electroquímicos hay que optimizar la cantidad relativa de los componentes para obtener un material con suficiente conductividad y resistencia mecánica. El material conductor utilizado con más frecuencia para estos sensores es el carbón, disponible en diferentes morfologías como son el polvo de grafito, fibras de carbono y el negro de carbón [Godovski y col., 1993]. El polvo de grafito es el material conductor más utilizado, porque otorga al material resultante una resistencia óhmica muy baja lo que implica pequeñas corrientes residuales y, como consecuencia, una mejor relación señal-ruido [Céspedes y col., 1996].

El método de preparación más sencillo consiste en la mezcla de los componentes en un recipiente y su colocación, cuando no ha comenzado a endurecer, en la cavidad del sensor que se ha provisto de un contacto metálico. El endurecimiento o curado del material polimérico depende de la naturaleza del polímero, pudiendo ser una reacción de polimerización química [Alegret y col., 1996], térmica [Engstrom, y col., 1985] o activada por un agente polimerizante [Henriques y Fogg, 1984]. Las partículas conductoras se encuentran distribuidas al azar, al igual que sucede en la pasta de carbón, donde el aglutinante de la pasta cumple el papel del polímero en la matriz polimérica.

La obtención de materiales poliméricos modificados es tan sencilla como cuando se trabaja con pastas de carbón modificadas. Basta con añadir el agente modificador deseado a la matriz del polímero previo a la etapa de curado. La forma habitual de proceder es homogeneizar la mezcla inicial preparada con el material conductor, el polímero y el modificador para que la polimerización incluya en la estructura del material polimérico resultante al agente selectivo seleccionado [Céspedes y col., 1996].

La elección del polímero dependerá en gran medida de la aplicación que pretenda darse al sensor diseñado. Si se incluye en la composición un modificador biológico para construir un biosensor de matriz polimérica se busca un polímero cuyo curado no implique altas temperaturas, puesto que podría afectar al agente bioselectivo. Para la construcción de sensores electroquímicos se han empleado, principalmente, resinas epoxi [Skladal y Mascini, 1992], siliconas [Alegret y col., 1996],

poliestireno [Creasy y Shaw, 1989], polietileno [Liberti y Morgia, 1985], metacrilato [Alegret y col., 1996] y teflón [Klatt y col., 1975]. Los avances en el campo de la ciencia de materiales hacen que aparezcan nuevas matrices poliméricas continuamente, como la polianilina [Nesligül y col., 2009] y el polipirrol [Lan y col., 2009] con los que se trabaja en la actualidad para la preparación de biosensores.

La utilización de este tipo de materiales en el desarrollo de sensores potenciométricos garantiza las ventajas que ofrecen los sensores de pasta de carbón modificados, en cuanto a respuesta electroquímica, añadiendo una mayor robustez al electrodo. En este caso, la renovación de la superficie del sensor puede hacerse mediante el pulido de la misma, con polvo de diamante, recuperando la señal con la misma reproducibilidad que garantiza la pasta de carbón [Rzewuska y col., 2008; Bobacka, 2006].

Las aplicaciones electroquímicas desarrolladas con los sensores contruidos con esta metodología abarcan tanto a técnicas amperométricas, para el análisis de analitos inorgánicos [Anderson y Tallman, 1976] como orgánicos [Park y Shaw, 1989] y las potenciométricas para ambos tipos de analitos [Ersoz y col., 2002; Shoji y Freund, 2002]. Se han empleado materiales poliméricos modificados con calixareno para el análisis de iones plata [Mousavi y col., 2005], con tetrahidróxido de metil amonio que es selectivo a aniones cloruro [Sjöberg-Eerola y col., 2004], incluso se ha empleado heparina como modificador para el análisis de iones calcio y magnesio [Paczosa y col., 2004]. También se han empleado para el análisis de drogas de interés farmacéutico que abarcan desde la noradrenalina hasta la prometazina [Visers y col., 2006], en el análisis de aniones [Colilla y col., 2005-B], en la determinación de aniones dodecilsulfoderivados [Alvarez Romero y col., 2004] y para la detección del cloro en su estado gaseoso [Aono y Sadaoka, 2000].

### 1.3.3. ELECTODOS SERIGRAFIADOS.

En el diseño de diferentes soportes para los sensores electroquímicos destaca la miniaturización alcanzada con la técnica del serigrafiado. El proceso de serigrafiado tiene su origen en la industria gráfica y se utiliza desde mediados del siglo pasado en la deposición de diferentes pastas para la producción de circuitos miniaturizados.

La aplicación de esta tecnología en el campo de la electroquímica comenzó en los años 90 como consecuencia del desarrollo de sensores de bajo coste y de sencilla producción en masa [Wang, J. y Tian, 1992; Wring y col., 1990]. Estos sistemas consisten en un soporte sólido plano sobre el que se construye el sensor. Resulta mecánicamente robusto y el diseño aporta una gran versatilidad puesto que mediante variaciones en el material utilizado o en el propio diseño dan lugar a electrodos marcadamente diferentes, lo que da lugar a su utilización en numerosas aplicaciones analíticas.

La técnica del serigrafiado consiste en hacer pasar una pasta, de las características adecuadas para el sensor diseñado, por una plantilla colocada sobre la superficie del soporte plano. Esta plantilla únicamente permite el paso a través de unos poros que, en su conjunto, definen la forma y dimensiones que tomará el material de la pasta sobre el soporte, quedando impreso [Wring y col., 1990; Wring y Hart, 1992]. Las plantillas utilizadas a tal efecto pueden ser o bien una malla formada por una alta densidad de hilos finos o una estructura sólida fina que presenta una serie de huecos. La cantidad de pasta que atraviese la plantilla será menor cuanto más pequeño sea el tamaño de poro de ésta. La naturaleza del material empleado como soporte suele ser plástica o cerámica siendo los más empleados el PVC y la alúmina.

Los electrodos serigrafiados pueden clasificarse en función de la naturaleza del material con el que se prepara la pasta que quedará impresa sobre el soporte. Cuando se emplean pastas formadas por polvos de metales como oro, platino, paladio o plata se habla de electrodos serigrafiados metálicos [Craston y col., 1991; Silber y col., 1995] y cuando se utilizan pastas que contienen grafito (similares a las empleadas para electrodos convencionales) se denominan electrodos serigrafiados de carbono [Galán Vidal y col., 1998; Albareda y col., 2001]. Las pastas incluyen siempre algún agente aglomerante en su preparación, pudiendo tratarse de un vidrio en

forma de polvo (borosilicatos), resinas, disolventes orgánicos o aditivos que proporcionen la funcionalidad deseada.

Los electrodos serigrafiados de carbono, también conocidos como SPCE (de *Screen-Printed Carbon-based Electrodes*) son los más utilizados ya que originan muy buenas respuestas electroquímicas con un bajo coste de fabricación. Este tipo de pastas pueden modificarse mezclando con la pasta el agente selectivo que quiera emplearse de la misma manera que se hace en los electrodos de pasta de carbón o de material polimérico. La modificación de los SPCE también puede realizarse recubriendo la superficie del electrodo serigrafiado de trabajo con una membrana. Por la amplia gama de posibilidades que ofrecen estos dispositivos es posible obtener todo tipo de sensores, incluyendo biosensores e inmunosensores [Domínguez Renedo y col., 2007].

En los SPCE vienen integrados todos los electrodos necesarios para realizar la medida electroquímica, el electrodo de trabajo que se obtiene mediante el serigrafiado descrito, el electrodo auxiliar que suele consistir en polvo de grafito impreso con la misma técnica y el electrodo de referencia en cuya impresión se utilizan tintas de plata, platino u oro según el empleo que quiera darse al sensor. Al electrodo de referencia fabricado con esta técnica se le denomina también pseudo-referencia por el diferente comportamiento que tiene frente a los electrodos de referencia convencionales.

Los electrodos serigrafiados pueden utilizarse para llevar a cabo medidas voltamperométricas y potenciométricas. El sistema de tres electrodos integrado en un mismo dispositivo permite su utilización en la medida de pequeños volúmenes de muestra, del orden de los microlitros, mediante la colocación de la disolución de medida sobre la superficie del soporte con los electrodos impresos. Además, el pequeño tamaño del dispositivo facilita su transporte aumentando en gran medida las posibilidades de llevar a cabo determinaciones “in situ”.

## 1.4. ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO EN CONTINUO.

El diseño estructural de un electrodo debe ser consecuente con la aplicación que se vaya a desarrollar. El cuerpo del electrodo se puede diseñar de tal forma que sea perfectamente integrable en un sistema de análisis automático, motivo por el que los sensores electroquímicos se han empleado frecuentemente en sistemas de flujo.

En los sistemas analíticos en flujo la medida se lleva a cabo de forma continua según va pasando la disolución a analizar a un determinado caudal. El Análisis por Inyección en Flujo (FIA, *Flow Injection Analysis*) surgió de la necesidad de automatizar el proceso analítico. Se introdujo en el año 1975 por Ruzicka y Hansen [Ruzicka y Hansen, 1975] constituyendo una importante innovación metodológica para la química analítica. La simplicidad, tanto conceptual como operacional, de esta técnica ha permitido el desarrollo de sistemas que permiten el análisis de un gran número de muestras de forma rápida y continua, facilitando en gran medida las labores de control y vigilancia de la concentración del analito.

La descripción básica del sistema consiste en la introducción de un volumen fijo de muestra en el seno de un líquido, denominado disolución portadora, que circula hacia el detector de forma continua. De esta forma se obtiene una respuesta al paso del portador consistente en una propiedad físico-química que sólo se verá alterada con el paso de la muestra inyectada si ésta contiene al analito. La magnitud en que se ve alterada la señal del detector se puede relacionar con la concentración de analito en la muestra.

El FIA comprende un sistema de propulsión que impulsa la disolución portadora hacia el detector con un caudal regulable y reproducible, un sistema de inyección para introducir, de forma precisa y exacta, un pequeño volumen de muestra en el portador y un sistema de detección. Todo el circuito está constituido por un sistema de gestión de fluidos, normalmente formado por tubos de teflón. El inyector puede funcionar de forma manual, accionando la válvula un operador, o puede estar gestionado de forma automática por un ordenador, automatizando el proceso de adquisición de datos.

La muestra llega al sistema de detección mezclada con la disolución portadora con cierto grado de dispersión. Si las condiciones experimentales de medida (caudal, volumen de inyección, longitud y diámetro de los tubos) se mantienen constantes la dispersión producida será idéntica. Esto implica que, si realizamos todas las medidas en las mismas condiciones, no es necesario que se haya alcanzado el equilibrio químico en las reacciones entre la muestra y la disolución portadora o un reactivo de la misma. Se puede considerar que estamos ante una medida cinética y no termodinámica, por lo que la señal se relaciona, igual que para análisis en estático y mediante curvas de calibración, con la concentración de analito [Ruzicka y Hansen, 1975].

Dentro de los sensores electroquímicos, los sensores potenciométricos aportan una serie de ventajas como son la simplicidad del dispositivo, selectividad y, en especial, elevadas velocidades de respuesta, que son muy adecuados para su uso en análisis en continuo. La unión de estas características con las ventajas inherentes del FIA dan lugar a una técnica de especial interés en química analítica, la Potenciometría por Inyección en Flujo (FIP, *Flow Injection Potentiometry*).

Existen diversos trabajos en los que se emplean FIP en el análisis de metales [Kamel, 2007; Karami y col., 2003], contaminantes orgánicos [Ortuno y col., 2005; Adhoum y col., 2003] o incluso en el campo de la biomedicina [Hassan y col., 2005-A], por citar algunos ejemplos que ponen de manifiesto la versatilidad de esta técnica de análisis.

En un sistema FIP el detector corresponde a una célula de medida en flujo donde se encuentran el sensor potenciométrico y el electrodo de referencia. El soporte diseñado para el sensor que quiera emplearse como detector debe integrarse perfectamente en esta célula. Existen diferentes diseños de células para incorporar un sensor potenciométrico a un sistema FIA. Básicamente deben contener un canal a través del que circule la disolución portadora y donde se sitúan las superficies de los electrodos indicador y referencia necesarios para la medida potenciométrica. Las configuraciones en que se disponen las superficies sensoras en el canal han sido objeto de estudio, siendo dos las más empleadas, la tipo *wall-jet* y la *thin-layer*.

En la configuración *wall-jet* el caudal de la disolución de medida incide perpendicularmente sobre la superficie del electrodo indicador [Fleet y Little, 1974] mientras que en la configuración *thin-layer* la disolución circula de forma paralela a



dicha superficie [Kissinger, 1983]. Generalmente se construyen las células de flujo para que puedan adoptar ambas configuraciones o incluso que tengan una configuración intermedia [Wang, J. y Chen, 1991].

Los avances realizados en esta área de investigación han hecho posible que existan en el mercado células de medida en flujo que llevan integrado un electrodo de referencia intercambiable y una carcasa para el electrodo de trabajo. La carcasa o soporte del electrodo de trabajo es el cuerpo del sensor potenciométrico. Posee una cavidad con un contacto metálico que debe rellenarse con el material que forma parte de la matriz del electrodo de trabajo, consiguiendo que el sensor se encuentre perfectamente integrado en el sistema de medida.

## 1.5. INTERÉS ANALÍTICO DEL CROMO.

Aunque este elemento se puede presentar en estados de oxidación desde  $-II$  hasta  $+VI$ , los considerados más relevantes son  $0$ ,  $II$ ,  $III$  y  $VI$ . El cromo elemental ( $0$ ) es un producto industrial no existiendo como tal en la naturaleza. El cromo divalente es un reductor muy potente que se oxida rápidamente tanto en agua como aire para formar el cromo trivalente. La especie hexavalente es un oxidante fuerte en medio ácido y se trata de una especie muy estable, al igual que el cromo trivalente. Por lo tanto las especies de mayor interés medioambiental, y que además son muy estables en medios naturales, implican a los estados de oxidación  $III$  y  $VI$  [Berceloux, 1999].

Entre las principales fuentes de cromo de origen natural se encuentran los minerales. El mineral más común y de mayor importancia económica es la *cromita* o *hierro cromado* ( $FeCr_2O_4$ ) donde el cromo se presenta en estado trivalente. Otro mineral, aunque menos abundante y de menor interés industrial es la *crocoíta* ( $PbCrO_4$ ) en el que este elemento se encuentra de forma natural en su estado hexavalente [Berceloux, 1999]. También puede encontrarse como impureza en otros minerales a los que otorga un color característico, caso del rubí, crisoberilo, esmeralda, granate, anfíboles, piroxenos y talcos [Burriel y col., 1983]. Otras fuentes naturales de cromo diferentes a los minerales incluyen emisiones volcánicas, incendios forestales, restos vegetales y aerosoles marinos.

Entre las fuentes antropogénicas que dan lugar a vertidos de cromo a la atmósfera se encuentran las torres de refrigeración, el pasivado de cromo, combustibles fósiles, la incineración de basuras, el refinado del mineral cromita, la producción química de cromo y ferrocromo, la fabricación de aceros y la producción de cementos. A pequeña escala se puede citar como fuente importante de cromo en ambientes cerrados a la tinta usada por las fotocopadoras [Pawlisz y col., 1997]. El vertido acuático de este elemento incluye los procesos de curtido, las propias torres de refrigeración, industrias de chapado y acabado metálico, y las plantas de producción de asbestos y de espejos. También se puede mencionar en este grupo a los vertidos procedentes del tratamiento del papel y a las plantas textiles [Pawlisz y col., 1997].

El cromo es uno de los metales pesados cuya toxicidad difiere en función de la especie en que se encuentre y de la concentración de ésta en el medio. En su estado de oxidación más alto posee mucha mayor toxicidad. Los seres humanos y los

animales están expuestos al cromo por inhalación, a través de la piel o por ingestión. Los derivados hexavalentes de este metal pueden penetrar en el organismo por cualquier vía con mucha mayor facilidad que el resto de las especies [Batley y Matousek, 1980]. Por este motivo para producir el mismo efecto genotóxico en animales son necesarias concentraciones menores de cromo (VI) que de cromo (III). Aunque todas las formas de este elemento, incluyendo cromo trivalente en altas concentraciones, causan cáncer a roedores, el cromo (III) en concentraciones bajas se ha constatado como un elemento esencial debido a su intervención en el mantenimiento de los niveles de glucosa y el metabolismo de lípidos y proteínas en los mamíferos [Gjerde y col., 1993; Prasad y Oberleas, 1976]. En cambio, el cromo hexavalente es un probado agente cancerígeno especialmente en caso de inhalación, siendo menos tóxico por vía oral o por contacto, ya que los pulmones son los órganos que suelen verse más afectados [NTP, 2000]. En lo referente al contacto con la piel el cromo trivalente no está relacionado con ningún efecto perjudicial mientras que el cromo hexavalente produce dermatitis irritante y reacciones de hipersensibilidad en función de la cantidad y el tiempo de exposición a este agente. Esta diferencia en la toxicidad hace de especial importancia la determinación de la concentración de las distintas especies de cromo presentes en una muestra para tener un control más riguroso de la toxicidad debida a este elemento.

La especiación de cromo se puede realizar incluyendo una etapa de pretratamiento de la muestra en la que separen ambos analitos antes de la etapa de medida y posterior determinación de cada especie empleando una técnica no selectiva como, por ejemplo, las técnicas atómicas. La especiación también puede llevarse a cabo utilizando un método que permita la determinación, de forma altamente selectiva, de un estado de oxidación y posterior reducción u oxidación de la otra especie de cromo para determinar la concentración de cromo total. De este modo, por diferencia se calcula la concentración de la otra especie en la muestra.

Un método ideal de especiación debe separar de forma efectiva el analito sin producir alteración alguna en la concentración de las especies. Las estrategias empleadas para el desarrollo de estas metodologías son variadas. En algunos casos se utilizan reactivos selectivos a una de las especies previo a la aplicación de una técnica de medida como puede ser la cromatografía líquida [Wang, J. y Chiu, 2004], cromatografía de gases [Muñoz y col., 2005], electroforesis [Pobozyl y col., 2003] o voltametría de redisolución anódica [Bobrowski y col., 2004].

Otra posibilidad para estudiar las distintas especies del cromo, sobre todo en función de la naturaleza de la muestra, consiste en utilizar métodos que incluyan la separación de las especies. La extracción líquido-líquido se basa en la complejación de una de las especies, que se extrae de forma selectiva en una de las fases pudiendo determinarse su concentración con la técnica adecuada [Tsogas y col., 2004]. La extracción en fase sólida se ha abordado de distintas maneras. En algunos casos se usa un absorbente que retenga ambas especies para eluirse con posterioridad bajo condiciones selectivas a uno u otro analito [Sahayam, 2002], en otros casos se utiliza un absorbente que tan sólo retenga a una de las especies mientras la otra permanezca en disolución [Dogutan y col., 2003] e incluso se puede usar un sistema de columna de extracción dual que permita la retención simultánea de cromo (III) y (VI) en distinta forma [Chomchoci y col., 2005]. En la especiación del cromo también se han empleado procedimientos basados en la extracción por punto crítico [Palkologos y col., 2001], el empleo de columnas de intercambio iónico [Themelis y col., 2006], mediante coprecipitación selectiva [Prasad y col., 2005] o con el denominado electrostacking bidireccional [Heb y col., 2001].

Otra estrategia comúnmente utilizada para la determinación de cromo (VI) es la colorimetría con 1,5-difenilcarbazida. La medida se basa en la reacción redox entre el reactivo y el cromo (VI) de forma altamente selectiva dando lugar a un complejo coloreado que se determina por absorción molecular UV-Visible [Morales Muñoz y col., 2004]. Este método se encuentra entre los que la US EPA (United States Environmental Protection Agency) recomienda para el análisis de cromo hexavalente [US EPA, 1990].

En todos los casos se requiere una posterior oxidación o reducción de la especie de cromo cuya concentración no ha sido determinada en el análisis inicial de tal manera que se determine la concentración total del analito siguiendo la misma metodología empleada. En ocasiones se utiliza paralelamente otra técnica que no discrimine entre las diferentes especies (como puede tratarse de las técnicas atómicas en general).

La mayoría de estas metodologías requieren de varias etapas en las que se debe manipular la muestra y, en algunos casos, de instrumentos sofisticados que complican los procedimientos para la realización de medidas *in situ*, siempre interesantes cuando se trata de obtener información de toxicidad de una muestra a

tiempo real. El análisis se convierte en un proceso largo, incluso tedioso, donde además se aumenta el riesgo de introducir posibles interferencias en la determinación. En muestras ambientales, como puede tratarse de suelos sedimentos o aguas, la presencia de materia orgánica afecta a la separación y determinación de ambas especies de cromo, especialmente en el caso del cromo hexavalente [Pettine y Capri, 2005; Grabarczyk, 2002], lo que implica incluir etapas de tratamiento de la muestra adicionales con la finalidad de eliminar esas interferencias. Por este motivo en la actualidad siguen desarrollándose métodos que aborden el análisis de cromo de forma selectiva evitando los posibles pretratamientos a las muestras y sin necesidad de separar los analitos. En este campo los métodos electroquímicos, por la alta selectividad que ofrecen, son un interesante campo por el que continuar investigando. Dentro de este área de trabajo los sensores químicos ofrecen las soluciones a muchos de los problemas que plantea el análisis y especiación del cromo.

### 1.5.1. SENSORES POTENCIOMÉTRICOS DE CROMO.

En los últimos años se ha incrementado el interés en el desarrollo de sensores potenciométricos selectivos a los distintos estados de oxidación del cromo. De los sensores potenciométricos sensibles a cromo hexavalente descritos hasta ahora cabe destacar que la mayoría están contruidos con membranas de PVC a las que se han añadido modificadores como el bicromato de una fenantrolina [Hassan y col., 1996], Rodamina B [Hassan y col., 2005-B], una butanodiamina [Choi y col., 2005], un éter corona [Singh, L.P. y col., 2005] o un calixareno [Kormali y col., 2007]. También se ha empleado poliestireno para la construcción de la membrana en lugar de PVC utilizando sulfato de plomo como modificador [Jain y col., 1995]. Sensores basados en matrices más robustas son el construido mediante el recubrimiento de un cable con un polímero que contiene un complejo de bisacetilacetionato de cadmio y cromo [Ardakani y col., 2005] y el sensor de matriz de material polimérico en el que se ha empleado como modificador material biológico, concretamente la corteza de un árbol denominado Yohimbe y el raballo de la uva [Fiol y col., 2007].

En lo referente a los sensores descritos de cromo (III) la situación es similar, abundan los sensores contruidos con membrana de PVC en los que se han empleado

modificadores como diversas bases de Schiff [Ganjali y col., 2006; Singh, A.K. y col. 2007; Ganjali y col., 2003; Shamsipur y col., 2005-B], compuestos éter corona [Gupta y col., 2006; Akl y col., 2006], macrociclos [Singh, A.K. y col., 2004], ácido oxálico [Gholivand y Raheedayat, 2004], resina Aurin TCA [Sharma y Goel, 2005], una triazona [Zamani y col., 2006] o un azobenceno [Abbaspour y Izadyar, 2001] y sensores diseñados con polímeros similares al PVC como el sensor de cromo (III) de membrana de poliestireno modificado con una tetrazona [Singh, A.K. y col., 2004] o el sensor fabricado con polifucsina básica con ácido dietilentetraminopentacético como modificador [Li y col., 2009]. También se han diseñado sensores que constan de un cable recubierto con un polímero que contiene al modificador, en este caso tetra y triazonas [Sil y col., 2004] y electrodo de pasta de carbón modificada con un gel de sílice activado con un silano [Zhou y col., 2009].

Aunque se han descrito numerosos sensores potenciométricos para la detección de cromo trivalente y cromo hexavalente solamente dos [Zhou y col., 2009, Fiol y col., 2007] están basados en membranas rígidas, mientras que la mayoría se construyen empleando membranas de PVC. Quizá sea este el motivo por el que no hay referencias sobre FIP para el análisis de cromo (III) y cromo (VI), al no presentar las membranas de PVC características adecuadas para ser utilizados en las medidas en continuo.

## 2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO





## 2.1. OBJETIVOS.

El objetivo del presente trabajo es el desarrollo de sensores potenciométricos para la determinación de cromo en sus especies trivalente y hexavalente. Los nuevos dispositivos diseñados deben presentar óptimos parámetros analíticos que serán puestos a prueba en diversas aplicaciones. Las respuestas a los diferentes analitos deben ser adecuadamente selectivas para poder realizar determinaciones directas de la concentración del metal en cada una de las especies en muestras de distinta naturaleza.

En este trabajo se han desarrollado sensores de diferente naturaleza y contruídos en distintos soportes. El elemento común que deben tener los materiales con los que se va a trabajar es el ligando que actúa como agente selectivo. Su elección es importante puesto que será un factor determinante de la selectividad característica del sensor desarrollado. Se elegirá un tipo de sensor u otro en función de la aplicación que se vaya a desarrollar.

El objetivo final de la tesis es el diseño y construcción de un único dispositivo que permita la detección simultánea y directa de ambos analitos y que permita el seguimiento y control de su concentración en muestras reales en sistemas de análisis en continuo. El bisensor obtenido deberá presentar parámetros analíticos adecuados para realizar este tipo de análisis y estará basado en los resultados obtenidos con los dispositivos desarrollados por separado.

Debido a la importancia que tienen los compuestos seleccionados como agentes selectivos, a continuación se detallan los que serán empleados.

### 2.1.1. COMPUESTOS SELECCIONADOS COMO MODIFICADORES.

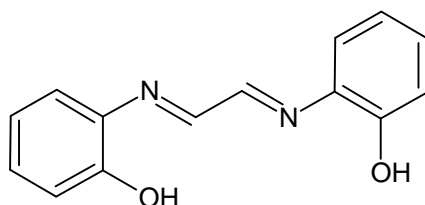
En el diseño de un sensor potenciométrico tiene capital importancia la elección del compuesto que actúa como agente selectivo al analito. Este ionóforo es el responsable de aportar una adecuada selectividad y sensibilidad al sensor.

La primera etapa del desarrollo de los sensores será seleccionar el ionóforo más adecuado para cada una de las especies de analito. Los ligandos más adecuados en su empleo como agentes selectivos son aquellos que tienen alta afinidad por el analito, esto es, los que tienen una estructura molecular adecuada para formar complejos metálicos. Las moléculas que contienen átomos donadores de oxígeno, nitrógeno y/o azufre suelen ser ligandos apropiados para utilizarlos como modificadores de sensores selectivos a especies metálicas.

El compuesto seleccionado para el cromo (III) fue *Di(2-hidroxifenilimino)etano* (DHPE, en adelante) y para el cromo (VI) *1,5-difenilcarbazida* (DPCI). El primero es un derivado nitrogenado de la glioxal (etanodiona) y el segundo es un conocido reactivo espectrofotométrico para la determinación selectiva de cromo (VI), como se ha comentado en la introducción de la memoria.

### 2.1.2. INTERACCIÓN ENTRE DHPE Y CROMO (III).

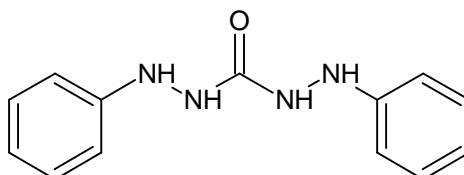
El DHPE contiene tanto átomos de nitrógeno como de oxígeno en su estructura (figura 2.1) por lo que está dentro del grupo que, previsiblemente, formará complejos con el analito. Se trata de un ligando tetradentado, con capacidad para coordinar al ión metálico por cuatro átomos donadores, dos nitrógenos y dos oxígenos. En 1995 El-Shatoury caracterizó mediante espectros de infrarrojos, análisis elemental y rayos X, entre otras técnicas, los complejos que se forman entre el DHPE y el cobre (II), níquel (II) y cromo (III). En los tres casos la estequiometría de los complejos formados era 1:1 [El-Shatoury, 1995].



**Figura 2.1.** Estructura del Di(2-hidroxifenilimino)etano, **DHPE**

### 2.1.3. INTERACCIÓN ENTRE DPCI Y CROMO (VI).

La DPCI es un derivado con sustituyentes aromáticos de la carbazida. Su estructura se refleja en la figura 2.2.



**Figura 2.2.** Estructura de la 1,5-difenilcarbazida, **DPCI**

La reacción producida entre el cromo hexavalente y la DPCI en la que se forma un complejo de color violeta se conoce desde que fue observada por Cazenevue en 1900 [Cazenevue, 1900]. Desde entonces fueron muchos los autores que intentaron explicar el mecanismo [Babko y Palii, 1950; Das Sarma y Ray, 1956; Liechtensteil y Allen, 1961] con cierto grado de controversia. A principios de los 70 [Willems y De Ranter, 1974] se describe el mecanismo como una reacción redox en la que el cromo (VI) se reduce a cromo (III) en presencia de DPCI que, a su vez, se oxida a difenilcarbazona (DPCO, en adelante). El complejo coloreado se forma entre el cromo (III) y la DPCO resultantes de dicha reacción. En medio acuoso y a temperatura ambiente no se observa la formación del complejo por reacción directa entre el cromo trivalente y la DPCO, debido a que el acuocomplejo de cromo (III) es inerte a la quelación, aunque en un disolvente de otra naturaleza, como la acetona, puede llevarse a cabo dicha reacción de forma directa. Este es el motivo por el que se considera a la DPCI un reactivo útil para la determinación de cromo hexavalente de forma selectiva.

El procedimiento seguido habitualmente se basa en un estudio espectrofotométrico del complejo formado al hacer reaccionar diferentes concentraciones de cromo (VI) con un exceso de ligando DPCI en medio ácido, a pH menores de 2. Este complejo tiene una estequiometría 1:1 y la longitud de onda del máximo de absorbancia se encuentra a 545 nm. La cinética de la reacción implica la

necesidad de una espera de, al menos, 30 minutos hasta que se desarrolla de forma definitiva el color, esto es, se forma la máxima cantidad del complejo en disolución [Willems y col., 1977; Marczenko, 1976; Fries y Getrost, 1977]. Este método colorimétrico se encuentra entre los recomendados por la US EPA para el análisis de cromo hexavalente en muestras de suelos según EPA 7196 (normativa sobre residuos sólidos SW-846) [US EPA, 1994]. También se utiliza, bajo la denominación de método 3500-Cr, como método normalizado en el análisis de muestras de aguas potables [American Public Health Association, 1985].

En química analítica está muy extendida la aplicación de la DPCI como agente extractante en la especiación de cromo utilizando diferentes técnicas de detección [Rajesh y col., 2008; Morales-Muñoz y col., 2004; Borai y col., 2002; Llobat-Estelles y col., 2001] o como parte de un mecanismo de preconcentración [Scindia y col., 2002]. El empleo de la DPCI en estudios electroquímicos es bastante reducido en comparación con los estudios espectrofotométricos. Se ha utilizado como modificador de electrodos de pasta de carbón para la determinación de cromo (VI) mediante voltamperometría diferencial de pulsos y voltamperometría cíclica [Hernández y col., 2005]. Sin embargo, son más numerosas las metodologías electroanalíticas que utilizan este compuesto en la disolución de medida como agente quelatante selectivo a cromo hexavalente [Sánchez-Fernández y col., 2005; Domínguez y col., 1999; García Dávila y col., 2007] en lugar de utilizarlo como componente del propio electrodo.

## 2.2 PLAN DE TRABAJO.

Para alcanzar los objetivos propuestos en el apartado anterior se ha seguido el plan de trabajo que se propone a continuación.

### 2.2.1 DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS SENSORES.

Se construirán electrodos de diferentes materiales compuestos y con diferentes diseños variando la naturaleza y las proporciones de los materiales implicados en su fabricación. En primer lugar se optimizarán la composición de la membrana y su efecto sobre la respuesta de los sensores y posteriormente se caracterizará la respuesta potenciométrica de cada uno de ellos. Los materiales compuestos modificados con los que se van a construir los sensores están basados en pasta de carbón y en materiales rígidos poliméricos. Para llevar a cabo esta actividad se realizarán los siguientes estudios para cada sensor desarrollado:

- Optimización de los parámetros analíticos.
  - Estudio de la influencia de la composición de los sensores sobre la respuesta al cromo.
  - Estudio de la respuesta potenciométrica en función del electrolito soporte empleado.
  - Estudio de la respuesta potenciométrica en función del pH.
- Caracterización de los sensores.
  - Caracterización de la superficie del sensor mediante microscopía de barrido electrónico (SEM-EDAX).
  - Cálculo de los tiempos de respuesta.
  - Establecimiento del intervalo de respuesta del sensor.
  - Cálculo de los límites de detección.
  - Estudio de la estabilidad y reproducibilidad de la respuesta potenciométrica.

- Estudio de la selectividad de la respuesta frente a posibles especies interferentes.

### 2.2.2 MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS EN CONTINUO.

Una vez caracterizados los sensores en función de la composición de los materiales constituyentes de cada uno de ellos se incorporarán en sistemas de medida en continuo. Para estos sistemas se optimizarán los parámetros de medida y se caracterizará la respuesta potenciométrica de los sensores en estas condiciones llevando a cabo los siguientes estudios:

- Optimización de los parámetros de flujo.
  - Longitud del tubo que conecta la válvula de inyección con la célula de detección.
  - Efecto del caudal sobre la sensibilidad y la frecuencia de medida.
  - Efecto del volumen de muestra sobre la sensibilidad y la frecuencia de medida.
- Caracterización de la respuesta potenciométrica del sistema de medida en continuo.
  - Cálculo de la frecuencia de análisis.
  - Establecimiento del intervalo de respuesta del sensor.
  - Cálculo del límite de detección.
  - Estudio de la estabilidad y reproducibilidad de la respuesta potenciométrica en flujo.
  - Estudio de la selectividad de la respuesta frente a posibles especies interferentes.

### 2.2.3 DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE UN BISENSOR.

Una vez diseñados y caracterizados los sensores individuales para la medida tanto de cromo (VI) como cromo (III), se considerarán los materiales de membrana más adecuados para la construcción de un bisensor para cromo (III) y cromo (VI). Tras seleccionar los materiales, se diseñará un bisensor basado en la metodología *screen-printed*. A continuación se caracterizará la respuesta potenciométrica del bisensor para sistemas de medida en estático y en flujo siguiendo los mismos procedimientos que para los sensores anteriores. Por último se caracterizará su respuesta para disoluciones que contienen cromo (VI) y cromo (III) en distintas proporciones para evaluar la capacidad de predicción del bisensor en mezclas.

### 2.2.4 APLICACIONES.

Los sensores caracterizados para cada sistema de medida se emplearán en diferentes aplicaciones que pongan a prueba su versatilidad, incluyendo la determinación de cromo hexavalente y trivalente en muestras reales de interés analítico. Las aplicaciones que se llevarán a cabo son las siguientes:

- Utilización de los sensores como indicadores en valoraciones potenciométricas:
  - Valoración complexométrica de Cr (III) con AEDT.
  - Valoración redox de Fe (II) con Cr (VI).
- Análisis por potenciometría directa de los estados de oxidación de cromo en muestras ambientales, entre las que se encuentran:
  - Aguas naturales y residuales.
  - Sedimentos.
  - Lixiviados de vertederos urbanos.





### 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL



### 3.1 REACTIVOS Y APARATOS.

#### 3.1.1. REACTIVOS Y MATERIALES GENERALES.

♦ Reactivos empleados en la preparación de disoluciones.

- Nitrato sódico, nitrato potásico, cloruro sódico y cloruro potásico de *Merck* (Alemania) y *Scharlab* (España), todos de grado analítico.
- Ácidos clorhídrico y sulfúrico concentrados de *Panreac* (España) de grado analítico y nítrico y acético concentrados de *Scharlab* (España) de grado analítico.
- Hidróxido sódico en lentejas de *Scharlab* (España) de grado analítico.
- Cromato potásico y nitrato de cromo (III) de *Fluka* (Suiza) de grado analítico.
- Sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético (AEDT) de *Carlo Erba* (Italia) y sulfato ferroso amónico (Sal de Mohr) de *Probus* (España), grado analítico.
- Nitratos de los metales (plomo, cadmio, zinc, magnesio aluminio, etc.) de *Carlo Erba* (Italia) y *Scharlab* (España), ioduro potásico y sulfato sódico de *Scharlab* (España), fluoruro potásico de *Merck* (Alemania), fosfato sódico y persulfato potásico de *Carlo Erba* (Italia), todos ellos de grado analítico.
- Permanganato potásico de *Panreac* (España), periodato sódico y persulfato potásico de *Fisher* (EE.UU.) de grado analítico.

Todas las disoluciones se prepararon en agua ultrapura obtenida mediante el sistema Milli-RO-Milli-Q. Las disoluciones patrones de cromo (VI) y cromo (III) 0.1000 mol L<sup>-1</sup> se preparan por pesada directa de la cantidad del cromato potásico y nitrato de cromo (III), respectivamente, y posterior disolución en agua ultrapura. El resto de disoluciones patrón de menor concentración se preparan por adecuada dilución del patrón de concentración 0.1000 mol L<sup>-1</sup> con el electrolito utilizado en la medida.

#### ♦ Materiales y disolventes.

- Agua ultrapura obtenida con un equipo Milli-RO-Milli-Q.
- Acetona, grado reactivo, de *Scharlab* (España).
- Resina adsorbente Amberlite XAD-8 y resina de intercambio aniónico Amberlite IRA-400 de *Carlo Erba* (Italia) de grado cromatográfico.
- Filtros de jeringa de acetato de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y 25 mm de diámetro de la casa *Osmonics* (EE.UU.)

#### ♦ Muestras.

- Suplemento alimenticio de hierro Tardyferon de la casa *Robapharm* (España).
- Material de referencia certificado BCR-701 (Sedimentos de lago) proporcionado por *Institute for Reference Materials and Measurements*, IRMM, (Bélgica).
- Agua mineral comercial. Composición analítica indicada en el envase: Residuo seco (180°C) 331 mg/L; Sodio 21 mg/L; Magnesio 32 mg/L; Calcio 64 mg/L;  $\text{HCO}_3^-$  255 mg/L.
- Agua mineral comercial. Composición analítica indicada en el envase: Residuo seco (180°C) 216 mg/L; Sodio 4.8 mg/L; Magnesio 8.8 mg/L; Calcio 27.2 mg/L;  $\text{HCO}_3^-$  105 mg/L.
- Agua de la red de distribución del Canal de Isabel II.
- Agua de la cuenca del río Manzanares. Punto de muestreo: Puente medieval, carretera de Colmenar-Cerceda, fecha de muestreo 10-02-2007.
- Lixiviado de un vertedero de la zona oriental de la Comunidad de Madrid.

### 3.1.2. MATERIALES PARA LA CONSTRUCCIÓN DE ELECTRODOS.

- 1,5-difenilcarbazida suministrada por *Riedel-de Haën* (Alemania) de grado analítico
- Di(2-hidroxifenilimino)etano de *Acros Organics* (Bélgica) de grado analítico.
- Polvo de grafito sintético (1-2  $\mu\text{m}$ ) de *Aldrich* (EE.UU.).
- Aceite de parafina de *Fluka* (Suiza).
- Jeringas de polipropileno de 1 mL de volumen y tubo de metacrilato como soportes de los electrodos.
- Materiales utilizados para realizar el pulido de las superficies de los sensores: papel de lijado para metales de tamaño de grano P1000 de la casa *Imperial* (Italia) y pasta de diamante con alfombrilla de pulido de *Buehler* (EE.UU.).
- Electrodos serigrafiados de carbón con electrodo de referencia de pintura de plata, con un solo electrodo de trabajo modelo DRP-C110 y con dos electrodos de trabajo modelo DRP-C1110, suministrados por *Dropsens* (España).
- EPOFIX<sup>®</sup>, resina de base epóxida suministrada por *Struers* (Dinamarca) que polimeriza al mezclar sus dos componentes en relación 15/2 para volúmenes y 25/3 para masas comenzando a endurecer al cabo de 20 minutos y cuya curación se completa a las 4 horas. La composición de cada uno de los componentes es:

#### *Resina Epofix:*

60-90%: Bisfenol-A-(epiclorhidrín) y resina epoxi (P.M. medio  $\leq 700$ ).

10-40%: Oxirano y mono[(C12-14-alkiloxi)metil] derivados.

#### *Endurecedor Epofix:*

95-100%: Trietilentetramina

<2%: 2-(2-Aminoetilamino)etanol

<1%: 3,6,9- Triazaundecametilendiamina

<1%: 2-Piperazin-1-yetilamina

- **METAFIX<sup>®</sup>**, material polimérico de base metacrilato de *Struers* (Dinamarca) que polimeriza al mezclar sus dos componentes en relación 14/10 en peso o 2/1 en volumen comenzando a endurecer a los 2 minutos y cuya curación se considera completa a los 10 minutos. La composición de sus componentes es:

*Polvo Metafix:*

100%: Metilmetacrilato polimérico.

*Líquido Metafix:*

< 1% : N,N-Dimetil-p-toluidina

30-40 %: 2-Hidroxipropil metacrilato

30-40 %: Tetrahidrofurfuril-2-metacrilato

30-40 %: 2-Etilhexil metacrilato

#### 3.1.3. INSTRUMENTACIÓN.

Los instrumentos utilizados para el desarrollo de este trabajo son:

- pH-metro / ionómetro *Metrohm* (EE.UU.) modelo 781, empleado para llevar a cabo medidas de potencial y pH.
- Sistema integrado de potenciómetro y dosímetro 'Dosimat titrando 809' de *Metrohm*. El sistema está controlado mediante el software Tiamo v3.1 que permite el control del instrumento, registrar simultáneamente las señales de varios sensores en continuo y el tratamiento de datos.
- Electrodo de referencia de Ag/AgCl de doble unión *Metrohm* modelo 6.0726.100 empleado para la medida de potenciales. El compartimento externo del electrodo se rellena con el mismo electrolito soporte utilizado en las disoluciones de medida y se renueva diariamente.
- Electrodo de pH combinado *Metrohm* modelo 6.0233.100.
- Celda electroquímica con camisa termostática *Metrohm* modelo EA876-20, empleada en las medidas potenciométricas en estático.

- Termostato P-Selecta, modelo Digiterm s-613 para el control de la temperatura de las células electroquímicas de medida.
- Tamiz de malla de nylon de 32  $\mu\text{m}$  de tamaño máximo de partícula proporcionado por *Cisa* (España).
- Mortero de ágata de 40 mm de diámetro de la casa *Nahita* (Japón).
- Espectrofotómetro UV-Visible de la casa *Analytikjena* (Alemania) modelo Sepecord 205, empleado para las medidas espectrofotométricas de formación del complejo Cromo(III)-difenilcarbazona. También se utilizaron cubetas de cuarzo de la casa *Hellma* (Alemania) de 1.00 cm de paso óptico.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Unicam serie Solaar M de la casa *Thermo* (EE.UU.), empleado para la determinación de cromo total en las muestras. Las medidas se realizaron siguiendo las condiciones recomendadas por el fabricante (tabla 3.1):

**Tabla 3.1.** Parámetros empleados en la determinación de cromo total por espectrofotometría de absorción atómica.

PARÁMETROS ESPECTRÓMETRO	Longitud de onda	Ancho de rendija	Tiempo de medida	
	357.9 nm	0.5 nm	3.0 s	
PARÁMETROS HORNO	Secado	Calcinado	Atomizado	Limpieza
Temperatura, °C	110	1200	2500	2600
Tiempo, s	30	20	3	3
Rampa, °C s <sup>-1</sup>	10	150	0	0
Flujo de gas, L min <sup>-1</sup>	0.2	0.2	Apagado	0.2
PARÁMETROS LLAMA	Tipo de llama	Nebulizador	Flujo combustible	Altura mechero
	Aire-acetileno	4 s	1.1 L min <sup>-1</sup>	0.8 mm

- Centrífuga de *Hettich* (Alemania), modelo Universal 16.
- Agitador orbital P-Selecta, modelo Rotabit.
- Microscopio electrónico de barrido (SEM) Philips, modelo XL30 equipado con un analizador de rayos-X (EDAX) modelo DX4i, empleado para fotografiar y analizar la superficie de los sensores, perteneciente al Servicio Interdepartamental de Investigación de la U.A.M. (SiDI).
- Equipo de purificación de aguas Milli-RO 5 plus –Milli-Q 85 plus de la casa *Millipore* (EE.UU.) para la obtención de agua ultrapura.

#### 3.1.4 COMPONENTES DEL SISTEMA DE ANÁLISIS POTENCIOMÉTRICO EN FLUJO (Flow Injection potentiometry, FIP).

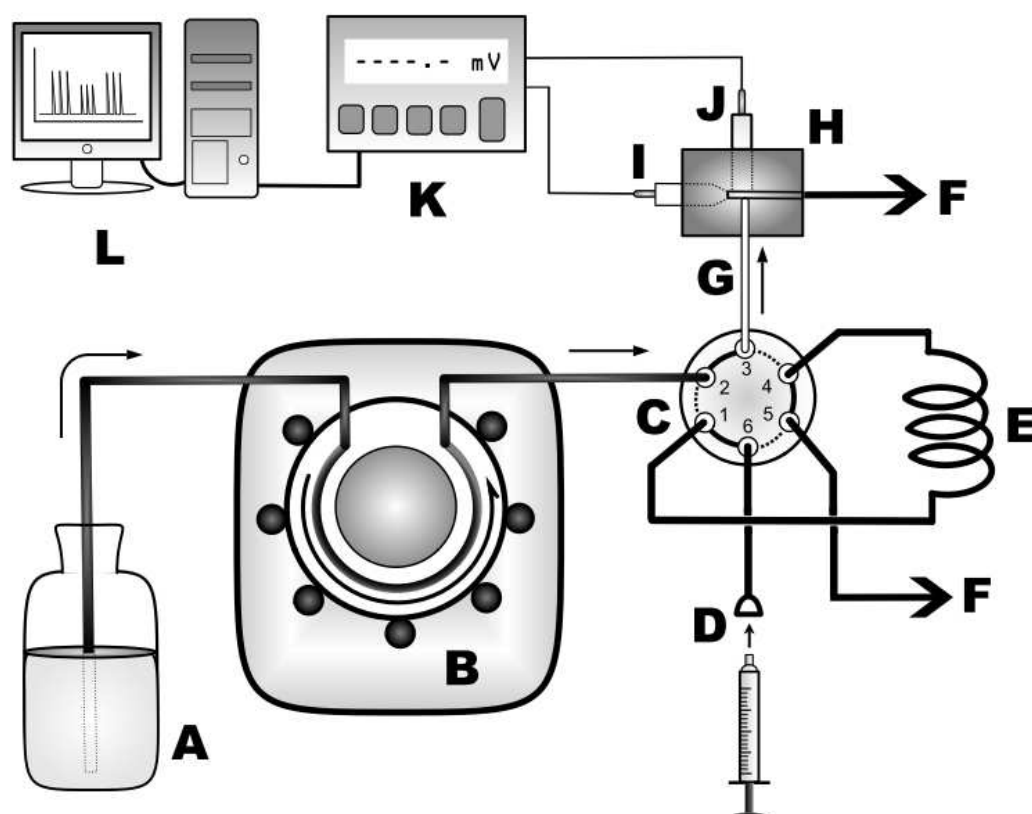
Las medidas potenciométricas en continuo se realizan utilizando el sistema de flujo esquematizado en la figura 3.1 El sistema consta de las siguientes partes:

- Depósito donde se encuentra la disolución de electrolito portadora (Figura 3.1.A)
- Bomba peristáltica *Gilson* (EE.UU.) modelo Minipuls 3 (Figura 3.1 B).
- Válvula de inyección manual de seis vías *Rheodyne* (EE.UU.), fabricada en teflón, modelo rotatorio *Type 50* (Figura 3.1 C).
- Bucles de muestra (Figura 3.1 E) de diferentes volúmenes, 100, 250, 500, 1000 y 2500  $\mu\text{l}$ , fabricados en teflón y proporcionados por *Rheodyne* (EE.UU.).
- Célula de flujo (Figura 3.1 H). Se utilizaron dos células de flujo diferentes, según los sensores empleados. La célula de flujo utilizada para electrodos convencionales suministrada por *Metrohm* (EE.UU.) modelo 6.5303.020 fabricado en teflón y de configuración *wall-jet* (Figura 3.2) equipada con un cuerpo de electrodo de trabajo de pasta de carbón mod. 6.0807.000 y de un electrodo de referencia de Ag/AgCl de doble unión mod 6.0727.000. Para el sistema de flujo con electrodos serigrafados se utilizó la célula suministrada por *Dropsens* (España), modelo DRP-FLWCL, de configuración *wall-jet*, construida con metacrilato incoloro, lo que dota de transparencia a la célula

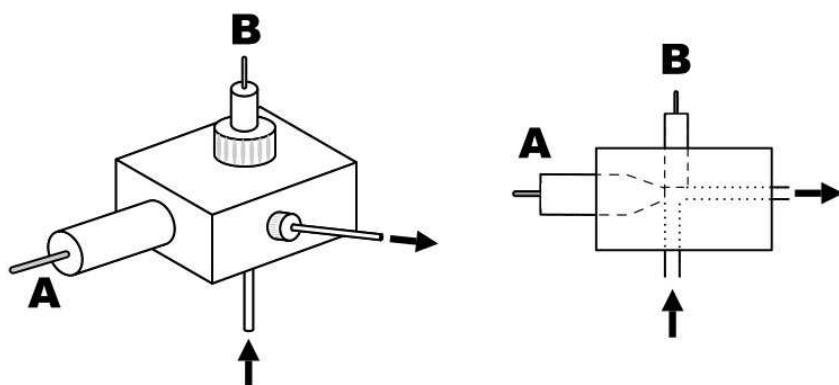


(Figura 3.3). Consta de dos piezas móviles con una bisagra que permite la apertura del sistema para introducir el electrodo serigrafiado. Una goma de caucho garantiza el sellado de la cavidad formada al cerrarse.

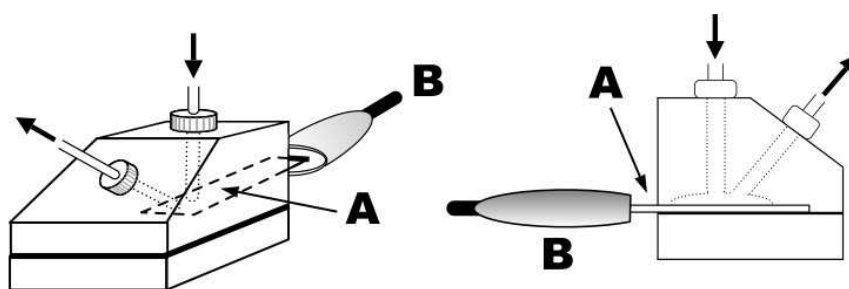
- Sistema de detección potenciométrico (Figura 3.1 K) constituido por el potenciómetro integrado dentro del sistema 'Dosimat titrando 809' de la casa *Metrohm* (EE.UU.) equipado con el sistema de adquisición y tratamiento de datos (Figura 3.1 L) Tiamo v3.1.
- Depósito de desecho (Figura 3.1 F), donde se recoge la disolución que ha recorrido el sistema y el exceso de muestra empleado para rellenar el bucle.



**Figura 3.1.** Esquema del sistema de medida en flujo. **A** Disolución portadora. **B** Bomba peristáltica. **C** Válvula de inyección de tres canales (o seis vías), la posición de los canales presentada en forma de línea continua es la situación de carga y la posición representada como línea discontinua es la de inyección. **D** Jeringuilla para la introducción de muestra. **E** Bucle de muestra. **F** Residuo, tanto de la célula de medida como de la válvula. **G** Conexión de la válvula con la célula. **H** Célula de flujo. **I** y **J** Electrodo de referencia y electrodo de trabajo. **K** y **L** Potenciómetro, integrado dentro de un sistema de adquisición y el procesado de los datos.



**Figura 3.2.** Célula de flujo utilizada para los electrodos de pasta de carbón. A, electrodo de referencia. B, electrodo de trabajo.



**Figura 3.3.** Célula de flujo para electrodos serigráficos. A, electrodo serigráfico. B, conector del electrodo con el transductor y el sistema de adquisición de datos.

## 3.2. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE LOS ELECTRODOS.

A lo largo del presente trabajo se han desarrollado sensores potenciométricos de diferente naturaleza, unos preparados con pasta de carbón y otros con materiales poliméricos utilizando resinas de base epóxida y de base metacrilato. Los sensores se preparan con diferentes diseños dependiendo de la finalidad para la que se utilicen.

### 3.2.1. SENSORES DE PASTA DE CARBÓN.

#### 3.2.1.1. PREPARACIÓN DE LA PASTA DE CARBÓN.

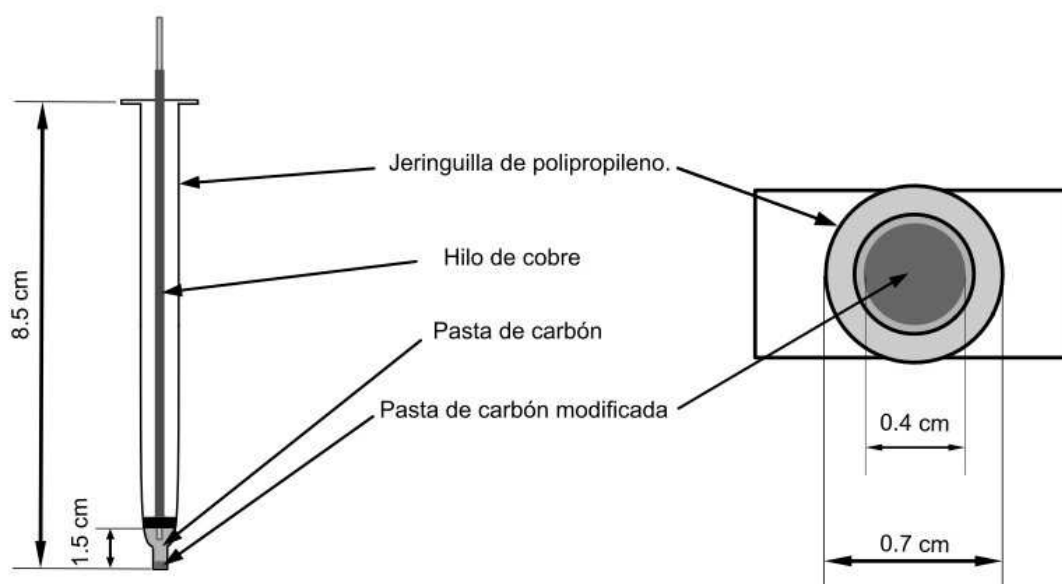
Para el desarrollo de los distintos ensayos, se prepara pasta de carbón con y sin modificador. La pasta de carbón sin modificar se prepara mezclando manualmente en un mortero de ágata 200 mg de polvo de grafito y 50 mg de Nujol como aglutinante hasta que adquieran la textura de una pasta homogénea.

Para la preparación de la pasta de carbón modificada, primero se realiza la molienda del compuesto utilizado como modificador en el mortero de ágata hasta la obtención de un polvo fino. Posteriormente, se retiran las partículas de mayor tamaño del polvo mediante el uso de un tamiz de nylon de 32  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. A continuación se mezclan, en el mortero de ágata, las cantidades adecuadas de polvo de grafito y de polvo tamizado del modificador hasta alcanzar una mezcla completamente homogénea. Las cantidades de cada uno de los componentes de la mezcla sólida varían según lo requerido en cada estudio, pero manteniendo siempre una masa final de la mezcla sólida de 200 mg. Finalmente se añaden 50 mg de aceite de parafina y se mezcla meticulosamente en el mortero de ágata hasta la obtención de una pasta homogénea.

### 3.2.1.2 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE ELECTRODOS DE PASTA DE CARBÓN.

Los sensores potenciométricos de pasta de carbón modificada se construyen utilizando un contacto interno metálico de cobre. La membrana debe separar la disolución de medida de la parte interna del sensor lo que implica que la pasta de carbón debe quedar perfectamente compactada y estar en contacto con el hilo de cobre con el que se realiza el contacto eléctrico.

Para la construcción del sensor se utiliza una jeringa de polipropileno de 1 mL como soporte de la membrana, a la que se equipa con el hilo de cobre. El cuerpo de la jeringa tiene las siguientes dimensiones: una longitud de 8.5 cm, una profundidad de la cavidad que se rellena con la pasta de carbón de 1.5 cm y un diámetro interno de 0.4 cm. En la figura 3.4 se muestra una representación esquemática del electrodo.

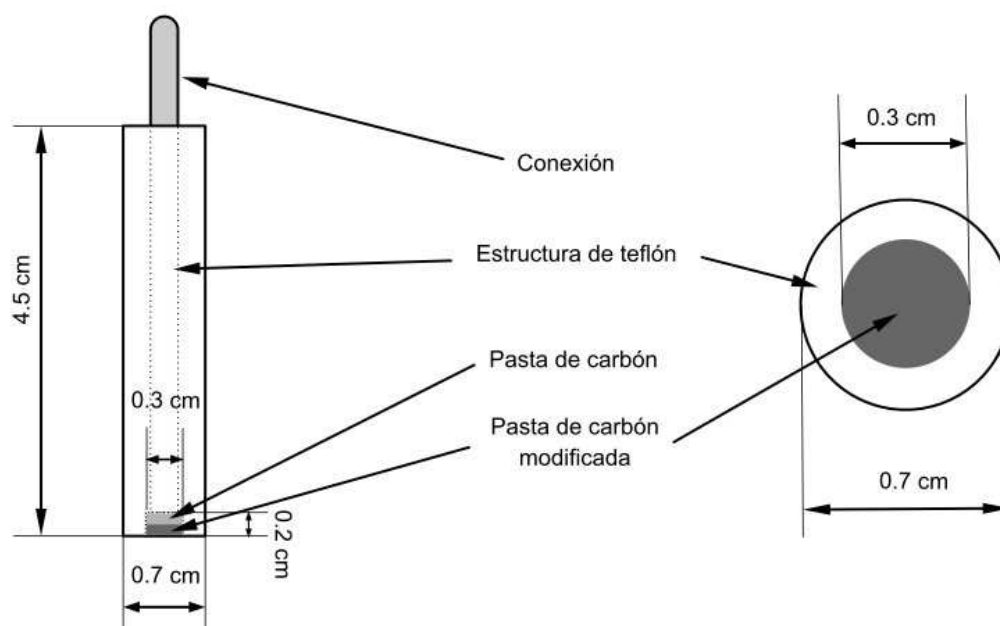


**Figura 3.4.** Esquema del electrodo de pasta de carbón construido usando una jeringa de polipropileno.

La cavidad a rellenar con la pasta de carbón se forma utilizando el propio émbolo de la jeringa. La pasta de carbón se presiona sobre el émbolo para lograr un perfecto empaquetamiento que permita un buen contacto entre la pasta y el conductor de cobre, evitando el contacto directo de la disolución con el hilo de cobre que podría provocar el mal funcionamiento del sensor.

Inicialmente se rellena la cavidad con pasta de carbón sin modificar que se compacta. Después, se elimina aproximadamente 1 mm de profundidad de la superficie de la pasta sin modificar y se sustituye por pasta de carbón modificada. Esta capa, que constituye la superficie del sensor, se compacta evitando así la aparición de grietas que expongan el interior del sensor a la disolución. Por último, se presiona la superficie del sensor sobre un papel de filtro para obtener una superficie pulida y mejorar el empaquetamiento de la pasta.

Para las medidas en flujo en las que se emplean membranas de pasta de carbón se utilizó el cuerpo de electrodo de pasta de carbón comercial de *Metrohm*. Este soporte está fabricado en teflón, tiene forma cilíndrica, una longitud de 4.5 cm y un diámetro externo de 0.7 cm. En un extremo del cuerpo sobresale el conector y en el otro extremo tiene una cavidad de 0.3 cm de profundidad y 0.3 cm de diámetro interno donde se encuentra la conexión eléctrica de platino. En la figura 3.5 se puede ver el esquema del electrodo.



**Figura 3.5.** Esquema del electrodo de pasta de carbón construido empleando un cuerpo de electrodo comercial.

Para su uso, se rellena inicialmente la cavidad del soporte con pasta de carbón sin modificar y después se sustituye la capa superficial del electrodo por pasta de

carbón modificada, de manera idéntica a la descrita para el electrodo convencional. Al igual que entonces, el procedimiento finaliza con un pulido y empaquetamiento de la superficie mediante presión sobre un papel de filtro.

### 3.2.2. SENSORES DE MATERIALES RÍGIDOS POLIMÉRICOS.

En este tipo de sensores se sustituye el aceite de parafina, utilizado como aglutinante para formar la pasta de carbón, por una resina de base epóxido o de base metacrilato. Las resinas están constituidas por dos componentes que polimerizan al ser mezclados dando lugar a un material rígido. Para obtener la membrana sensible a los iones, se mezclan el ligando modificador y el polvo de grafito con los reactivos que componen la resina en las proporciones adecuadas.

La presencia del modificador y del grafito, que quedan embebidos en este material, puede afectar al proceso de polimerización y endurecimiento de la resina. Se realiza un estudio para evaluar cómo las cantidades relativas de cada componente afectan a la dureza y rigidez del material resultante.

#### 3.2.2.1. PREPARACIÓN DEL MATERIAL RÍGIDO POLIMÉRICO.

##### *Membrana de base EPOFIX®*

Las membranas poliméricas de base epóxido se obtienen mezclando la resina con el líquido endurecedor en una relación 25/3 en masa.

En un recipiente de polipropileno se prepara una mezcla homogénea con las cantidades de polvo de grafito y modificador adecuadas a la que se añade la resina. La masa obtenida se mezcla minuciosamente añadiendo a continuación los miligramos adecuados de endurecedor. La mezcla resultante se homogeiniza manualmente y se deja curar durante 48 horas a temperatura ambiente para que endurezca.

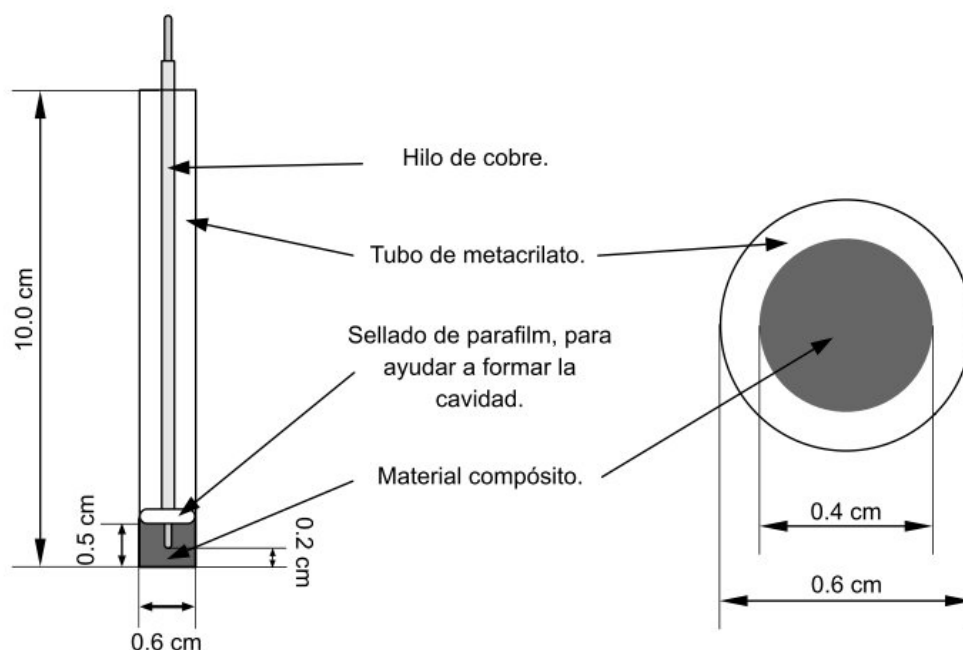
##### *Membrana de base METAFIX®*

Las membranas rígidas poliméricas fabricadas con este material se obtienen mezclando el componente sólido (metacrilato) y el líquido activador de la polimerización en la relación en peso 14/10 recomendada por el fabricante.

Para la preparación de la membrana se mezclan minuciosamente el polvo de metacrilato, el polvo de grafito y el modificador en las cantidades requeridas. Después se añade el componente líquido de la resina mezclándose manualmente con el resto de los componentes hasta la obtención de una pasta homogénea. El proceso de curado del material obtenido finaliza en 24 horas a temperatura ambiente.

### 3.2.2.2. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE ELECTRODOS DE MATERIAL RÍGIDO POLIMÉRICO.

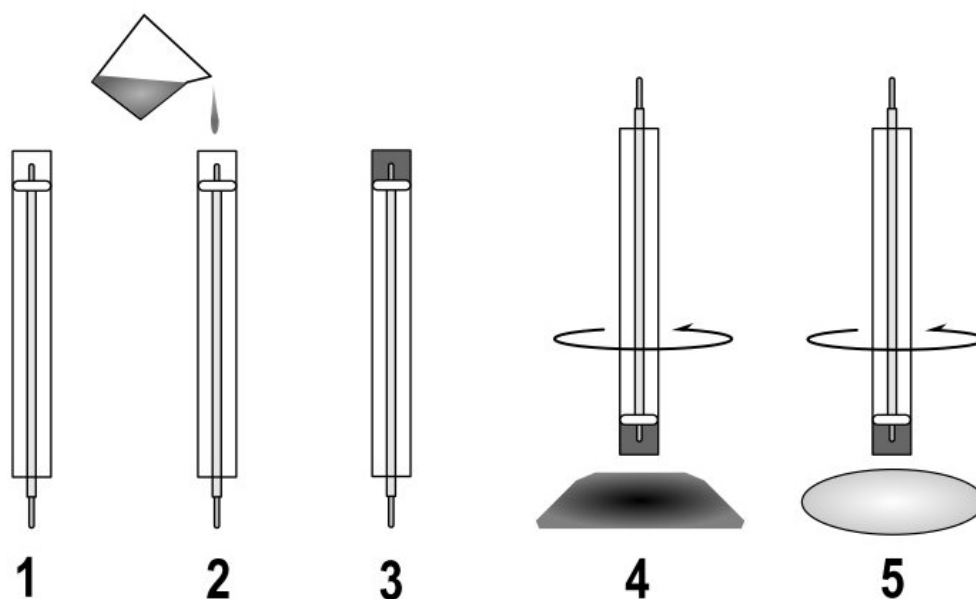
El cuerpo del electrodo (figura 3.6) consta de un hilo de cobre introducido en un tubo de metacrilato transparente e incoloro cuyas dimensiones son: 10.0 cm de largo, 0.6 cm de diámetro externo y 0.4 cm de diámetro interno. En uno de los extremos del tubo se deja una cavidad de unos 0.5 cm de profundidad sellada con un tapón de *parafilm* para sujetar en la posición adecuada el conductor de cobre que actuará como contacto eléctrico de la membrana. La distancia entre los extremos del cable y del tubo de metacrilato es de 0.2 cm.



**Figura 3.6.** Esquema del electrodo de material rígido polimérico construido usando un tubo de metacrilato.

El proceso completo de fabricación de los electrodos poliméricos modificados se esquematiza en la figura 3.7. Para la construcción del sensor, se rellena la totalidad

de la cavidad del electrodo con la mezcla obtenida en la fabricación del material de membrana polimérico modificado y se espera el tiempo necesario de curado manteniendo la cavidad del electrodo hacia arriba. Una vez endurecida la membrana, la superficie del sensor se pule inicialmente con lija de tamaño de grano P1000, se aclara con agua ultrapura y se limpia en un baño de ultrasonidos en contacto con agua ultrapura durante 15 minutos. Finalmente, la superficie del electrodo se pule con pasta de diamante hasta que alcanza un aspecto de espejo.



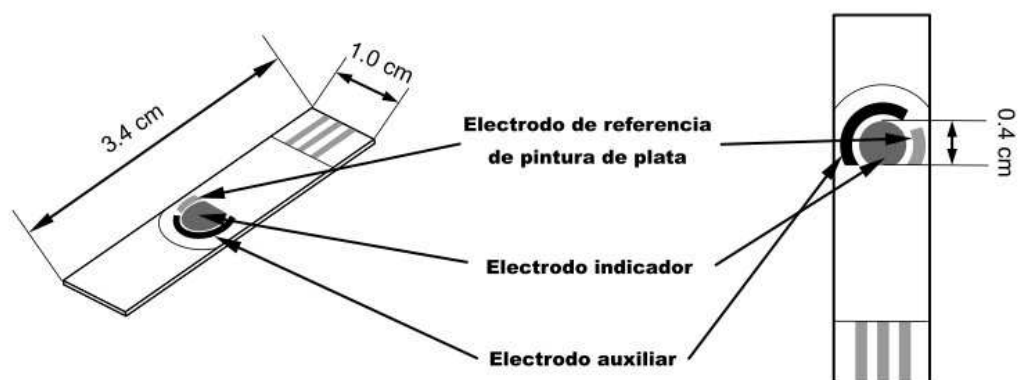
**Figura 3.7.** Esquema de la fabricación del electrodo polimérico modificado: **1.** Construcción de la estructura. **2.** Mezcla de los compuestos que darán lugar al material polimérico y llenado de la cavidad. **3.** Periodo de 24/48 horas de curación. **4.** Pulido con lija, tamaño de grano P1000. **5.** Pulido con pasta de diamante.

#### 3.2.2.3. CONSTRUCCIÓN DE SENSORES MODIFICADOS CON MATERIALES POLIMÉRICOS RÍGIDOS EMPLEANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS DE CARBÓN.

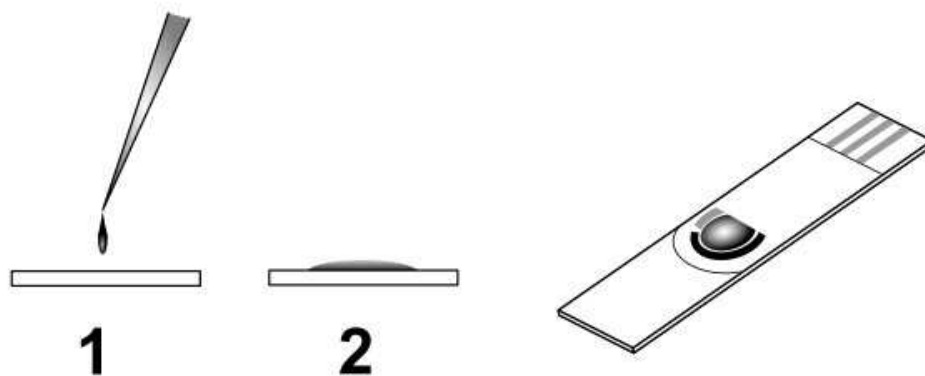
Con el fin de construir sensores que permitan reducir el volumen de muestra necesario para el análisis y la miniaturización del dispositivo de medida, se modificaron electrodos serigrafados de carbón comerciales (SCPE, esquema en la figura 3.8) con membranas poliméricas. El procedimiento consiste en recubrir la



superficie que corresponde al electrodo de trabajo con la mezcla del material polimérico antes de su endurecimiento.



**Figura 3.8.** Esquema del electrodo serigrafiado de carbón comercial.

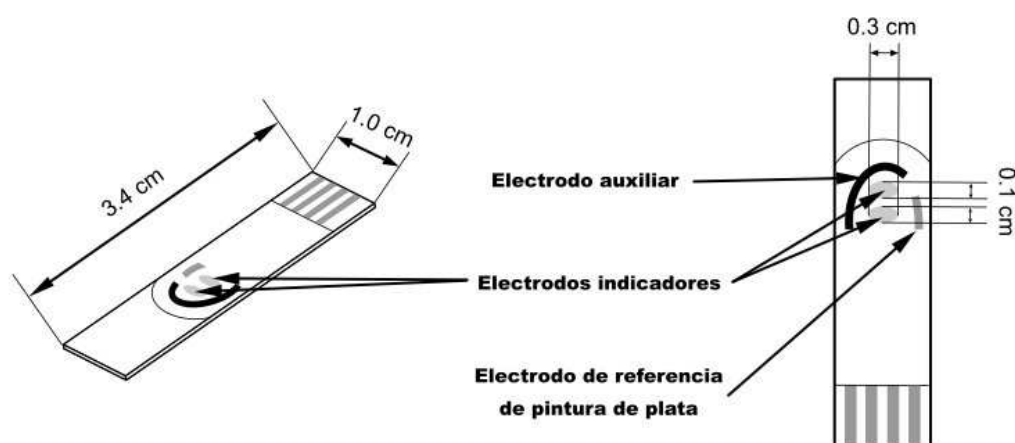


**Figura 3.9.** Esquema de la modificación de electrodo serigrafiado: **1.** Se deposita la mezcla del material antes de que comience la polimerización. **2.** Período de 48 horas de curación.

El proceso completo de construcción de los sensores serigrafiados modificados se esquematiza en la figura 3.9. Después de la preparación de la mezcla homogénea de polímero, polvo de grafito, modificador y activador de la polimerización, se depositan 7  $\mu\text{L}$  de esta mezcla sobre la superficie del electrodo de trabajo de carbón serigrafiado. El curado del material tiene lugar a temperatura ambiente.

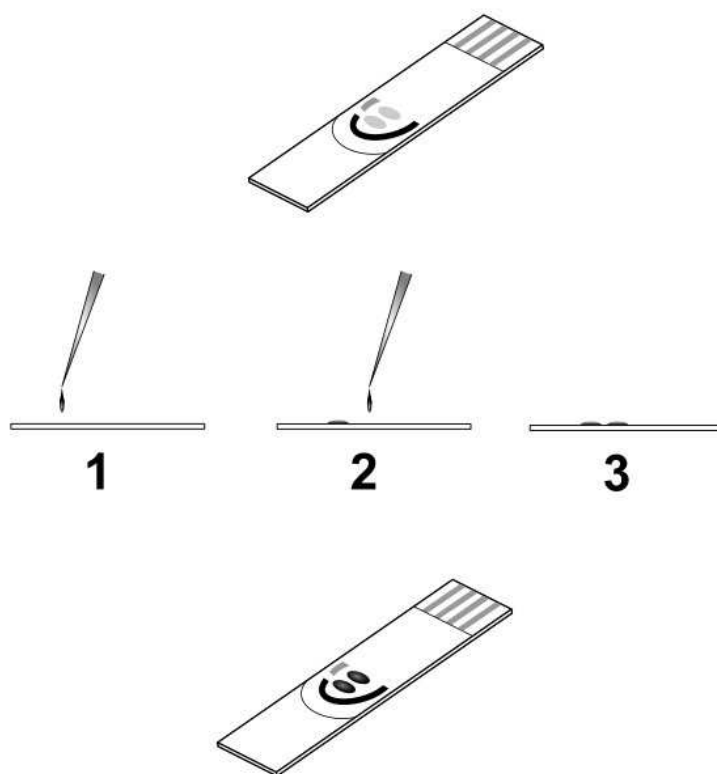
#### 3.2.2.4. CONSTRUCCIÓN DE BISENORES MODIFICADOS CON MATERIALES POLIMÉRICOS RÍGIDOS EMPLEANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS.

El procedimiento consiste en recubrir las superficies correspondientes a los electrodos de trabajo con la mezcla de cada material polimérico modificado. En este tipo de electrodos serigrafiados tenemos dos electrodos de trabajo, un electrodo de pseudoreferencia y un electrodo auxiliar (figura 3.10).



**Figura 3.10.** Esquema del electrodo serigrafiado de carbón comercial con dos electrodos de trabajo.

En primer lugar se preparan las mezclas del material polimérico con cada modificador. Después de la preparación de la mezcla homogénea de polímero, polvo de grafito, el modificador correspondiente y el activador de la polimerización, se depositan 2  $\mu\text{L}$  de cada mezcla sobre cada electrodo de trabajo de carbón serigrafiado. El curado del material tiene lugar a temperatura ambiente. En la figura 3.11 podemos ver el proceso de construcción del bisensor.



**Figura 3.11.** En la zona superior puede verse el electrodo serigrafiado previo a la deposición del material polimérico. En la zona media aparece el esquema de la modificación del bisensor: **1.** Se deposita la mezcla del material modificado con DPCI sobre el electrodo de trabajo superior antes de que comience la polimerización. **2.** Se deposita la mezcla del material modificado con DHPE sobre el electrodo de trabajo inferior antes de que comience la polimerización. **3.** Periodo de 48 horas de curación. En la zona inferior se representa el bisensor construido tras la deposición del material polimérico.

### 3.2.3. ACTIVACIÓN Y MANTENIMIENTO DE LOS SENSORES.

Previamente a la medida de potenciales, la membrana del electrodo debe ser activada. Para llevar a cabo esta activación, los electrodos de pasta de carbón o de membrana polimérica se sumergen, durante 4 horas, en una disolución  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> del ión al que son sensibles, en las mismas condiciones de solución que los empleados para la medida. Este tratamiento es necesario para obtener una medida estable de potencial. La activación de la superficie del sensor debe realizarse siempre que se renueva la superficie del electrodo, bien por cambio del material de la superficie (sensores de pasta de carbón) o bien por pulido de ésta (electrodos de membrana polimérica). Una vez activado el electrodo, su superficie se lava adecuadamente con

agua ultrapura. Los electrodos se conservan al aire, aislados del medio en recipientes de plástico.

La activación de los sensores serigrafiados de carbón modificados con material polimérico se lleva a cabo mediante la deposición en la superficie del electrodo indicador de un volumen de disolución que contiene al analito que cubra dicha superficie en lugar de sumergirlo. La gota se mantiene durante 4 horas. Pasado ese tiempo se lava la superficie del electrodo con agua ultrapura y se conserva como los electrodos convencionales.

Si la superficie del sensor se contamina o se observan diferencias en la respuesta potenciométrica, puede restablecerse el comportamiento esperado cambiando la capa más externa de la superficie del sensor. En el caso de los sensores de pasta de carbón modificada se sustituye por una nueva capa, presionando la superficie tras la sustitución sobre el papel de filtro. Para los sensores de material polimérico su renovación se realiza mediante pulido de la superficie con pasta de diamante. Después de la renovación, se activa la superficie del electrodo como se ha indicado anteriormente. En el caso de los electrodos serigrafiados con membrana polimérica, al no poder llevar a cabo su pulido, directamente se sustituye el dispositivo por otro nuevo.

### 3.3. PROCEDIMIENTOS.

En este capítulo se describen los procedimientos experimentales que se han llevado a cabo para realizar este trabajo. Se incluyen las medidas potenciométricas, tanto en estático como en flujo, para todos los sensores desarrollados.

También se describen los procedimientos realizados cuando los sensores se emplean para la determinación de los analitos en las muestras reales incluyendo las medidas obtenidas mediante el uso de técnicas no potenciométricas, tratamiento de las muestras y la preparación de disoluciones específicas que se necesiten.

#### 3.3.1 MEDIDA DEL POTENCIAL.

##### 3.3.1.1 MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS EN ESTÁTICO.

El procedimiento de medida general de los potenciales comienza sumergiendo el sensor potenciométrico, previamente activado, y el electrodo de referencia en una disolución de electrolito soporte que se encuentra en la célula de medida. Una vez alcanzada la estabilidad en el potencial (aproximadamente unos 15 minutos) se realiza la medida potenciométrica en la disolución patrón del analito o la disolución de la muestra.

Para la construcción de la recta de calibrado, se utiliza el *Método de Inyección* (Adición) [Linder y col., 1986]. Mediante el uso de micropipetas, se adicionan a la célula de medida que contiene el electrolito soporte pequeños volúmenes de disoluciones concentradas de analito de manera que la concentración de éste se encuentre comprendida entre  $1.00 \times 10^{-8}$  y  $1.00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. La disolución se mantiene en agitación constante, para garantizar la mezcla rápida y la homogeneidad, y termostatizada a  $25 \pm 1$  °C.

Para comprobar el adecuado funcionamiento del sensor, en algunos estudios realizados y en la determinación del analito en muestras reales se ha empleado el *Método de Inmersión*. En este caso, una vez estabilizado y medido el potencial del sensor en la disolución de electrolito soporte, se lava y se sumerge junto con el electrodo de referencia en la disolución de medida. Se deja el tiempo suficiente para que se estabilice el potencial y se mide. A continuación se lavan los electrodos con agua ultrapura y se sumergen en la nueva disolución de medida.

Las medidas potenciométricas en estático utilizando electrodos serigrafados se realizan mediante la deposición de 200  $\mu\text{L}$  de la disolución de medida sobre la superficie del sensor modificada con el material polimérico y el electrodo de referencia. El procedimiento consta de un primer paso en el que se deposita una gota de disolución de electrolito soporte y se mide el potencial hasta alcanzar un valor estable. Después se lavan los electrodos con agua ultrapura y se añade la disolución de medida. Tras estabilizarse y medirse el potencial se lavan los electrodos con agua ultrapura y se mide la siguiente disolución.

#### 3.3.1.2. MEDIDAS POTENCIOMÉTRICAS EN FLUJO.

Una vez instalados el sensor, previamente activado, y el electrodo de referencia en la célula de medida, se hace pasar la disolución portadora por todo el sistema a velocidad de flujo constante comprobando que las distintas conexiones se han realizado correctamente y no hay fugas ni burbujas de aire dentro del sistema. Cuando se obtiene una línea base estable, se realiza la inyección y medida de las muestras que se preparan en las mismas condiciones que la disolución portadora. Trabajar en las mismas condiciones evita que el potencial medido por el electrodo pueda verse afectado por las posibles variaciones en los valores de la fuerza iónica y/o el pH de la disolución de muestra. Tras la inyección se registra la variación del potencial con el tiempo.

#### 3.3.2 VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS.

Entre las aplicaciones desarrolladas para los sensores se encuentra su utilización en valoraciones potenciométricas empleándolos como electrodo indicador. El sensor modificado con DHPE se ha utilizado en el seguimiento de la reacción entre el cromo (III) y un agente complejante como es el AEDT. Con el sensor modificado con DPCI se ha realizado el seguimiento potenciométrico de la reacción de oxidación del hierro (II) con el cromo (VI).

### 3.3.2.1. VALORACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE CROMO (III) CON AEDT.

Se prepara una disolución de  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$   $5.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  en  $\text{NaNO}_3$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  a un pH de 3 y se añaden 25.0 mL de la misma a la célula de medida. La disolución se mantiene en agitación constante y termostatizada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se sumergen el electrodo de referencia, el combinado de pH y el sensor que usaremos en cada caso como indicador. Se adicionan volúmenes del orden de los microlitros de AEDT  $0.100 \text{ mol L}^{-1}$  a la célula y se registra el valor de potencial, una vez se haya estabilizado, tras cada una de las adiciones.

### 3.3.2.2 SEGUIMIENTO POTENCIOMÉTRICO DE LA REACCIÓN DE HIERRO (II) CON CROMO (VI).

La concentración de hierro (II) puede determinarse mediante su valoración redox con disolución de concentración conocida de cromo (VI) haciendo el seguimiento de la reducción del cromo a su estado de oxidación trivalente con los sensores modificados con DPCI.

En la célula de medida, se añaden a 50.0 mL de disolución de hierro (II) de concentración  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , preparado en  $\text{NaNO}_3$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  y ajustando el pH a 3 con una disolución de  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $1.0 \text{ mol L}^{-1}$ . A continuación, se adicionan pequeños volúmenes de cromo (VI)  $5.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Tras cada una de las adiciones, se registra el valor de potencial, una vez se ha estabilizado. Para el ajuste de pH se utiliza ácido fosfórico, mejor que ácido nítrico, para favorecer la reacción de oxidación del hierro, ya que los fosfatos acomplejan al hierro (III) que se va formando.

### 3.3.2.3. ANÁLISIS DE HIERRO (II) EN UN PREPARADO FARMACÉUTICO.

La capacidad del sensor como electrodo indicador en valoraciones potenciométricas se evaluó mediante la determinación del contenido en hierro (II) en un preparado farmacéutico. La muestra consiste en pastillas que contienen  $\text{FeSO}_4$  suministradas por los laboratorios *Pierre Fabre* (España) y comercializadas con el nombre de Tardyferon<sup>®</sup> como suplemento alimenticio de hierro.

Para su análisis, en primer lugar se pesan las pastillas obteniendo un valor aproximado de 630 mg por pastilla. A continuación, se muele cada una de ellas en un mortero de ágata almacenando el polvo resultante en un recipiente de polipropileno. Para extraer el hierro (II) de la pastilla, se tratan 600.0 mg de la muestra con 5.0 mL de HCl concentrado y 5.0 mL de agua ultrapura en el mismo recipiente, que se cierra y se mantiene en un baño de ultrasonidos durante 2 horas a 40 °C. Transcurrido ese tiempo y después de que la disolución se haya enfriado, se centrifuga a 3000 revoluciones  $\text{min}^{-1}$  durante 15 minutos y se filtra el sobrenadante con filtro de acetato de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$ , enrasando la disolución resultante a 50.0 mL en un matraz aforado con agua ultrapura. El procedimiento se repite con tres pastillas por separado.

Para el análisis de hierro en los extractos de las pastillas, una alícuota de 5.00 mL de la disolución de la muestra se diluye en electrolito soporte hasta alcanzar una concentración de  $\text{NaNO}_3$  0.10  $\text{mol L}^{-1}$  y se ajusta el pH a un valor de 3 con  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1.0  $\text{mol L}^{-1}$ . A continuación, se valora la disolución resultante adicionando pequeños volúmenes de disolución de cromo (VI)  $1.00 \times 10^{-2}$   $\text{mol L}^{-1}$  registrándose la variación de potencial con el sensor de cromo (VI) desarrollado como sistema indicador

Como análisis de contraste, el contenido en hierro se determinó, después de una adecuada dilución de la muestra mediante, espectrofotometría de absorción atómica en las condiciones reflejadas en la tabla 3.2:

**Tabla 3.2.** Parámetros empleados en la determinación de hierro total por espectrofotometría de absorción atómica con atomizador de llama.

PARÁMETROS ESPECTRÓMETRO	Longitud de onda	Ancho de rendija	Tiempo de medida	
	248.3 nm	0.2 nm	4.0 s	
PARÁMETROS LLAMA	Tipo de llama	Nebulizador	Flujo de combustible	Altura mechero
	Aire-acetileno	4 s	0.9 L $\text{min}^{-1}$	7.0 mm



### 3.3.3. DETERMINACIÓN DE CROMO (VI) EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS.

Para la determinación de cromo (VI) en sedimentos se utilizó el método de extracción descrito por la US EPA [US EPA, 1982]. En la primera etapa del análisis, se realiza la extracción alcalina del cromo hexavalente presente en el sedimento. Una vez separado de la matriz, la concentración de cromo (VI) en el extracto se determina mediante medida potenciométrica directa y mediante espectrofotometría de absorción molecular.

#### 3.3.3.1 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.

Se pesa, con precisión de 1 mg, 1 g de muestra. A continuación, se añaden 50.0 mL de una disolución de NaOH 0.10 mol L<sup>-1</sup> y se mantiene en agitación constante durante 24 horas, termostaticando a 25 °C. Una vez extraído el metal, la mezcla de extracción se centrifuga, a 3000 revoluciones min<sup>-1</sup> durante 15 minutos, y se filtra el extracto resultante con un filtro de acetato de celulosa de 0.45 µm.

Junto con el cromo se extraen diversos compuestos solubles a pH alcalino, especialmente importantes cantidades de materia orgánica que puede interferir en la determinación del metal mediante espectrofotometría de absorción molecular. Para eliminar la materia orgánica del extracto se realiza su extracción mediante una resina de acuerdo al siguiente procedimiento:

A 25.0 mL de extracto se añade 1.0 g de resina XAD-8 y se agita, mediante un agitador magnético, durante 5 minutos a temperatura ambiente. A continuación la mezcla se vuelve a filtrar para retirar la resina que ha absorbido la materia orgánica de la disolución.

#### 3.3.3.2 MEDIDA ESPECTROFOTOMÉTRICA.

A 5.00 mL del extracto obtenido tras el tratamiento con la resina XAD-8 se añaden 2.50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0 mol L<sup>-1</sup> y 500 µL de disolución de DPCI en acetona (disolución de 250.0 mg de DPCI en 100.0 mL de acetona) y se enrasa a 25.0 mL.

Para el calibrado, se preparan disoluciones patrón de cromo (VI) pipeteando, a matraces aforados de 25.0 mL, volúmenes adecuados de disolución patrón de cromo (VI) hasta alcanzar valores de concentración comprendidos entre 0.050 y 1.500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A continuación se añade al matraz 2.50 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1.0 M y 500  $\mu\text{L}$  de disolución de DPCI y se enrasa a volumen.

La medida espectrofotométrica de la disolución se realiza a 545 nm en cubetas de cuarzo de 10.0 mm de paso óptico. Todas las disoluciones así preparadas desarrollan rápidamente un color violeta que se degrada con el tiempo. Por ese motivo es importante que la medida se realice en menos de dos horas después de la mezcla de reactivos. Se recomienda esperar al menos 30 minutos antes de realizar la medida para conseguir la máxima concentración de complejo.

#### 3.3.3.3 MEDIDA POTENCIOMÉTRICA.

Se realizan las medidas en los extractos tratados y sin tratar con la resina XAD-8. El procedimiento seguido es el siguiente:

Se añaden a 20.0 mL del extracto 2.50 mL de  $\text{NaNO}_3$  1.0 mol  $\text{L}^{-1}$  para ajustar la fuerza iónica. Se ajusta el pH de la disolución a 3, mediante la adición de gotas de  $\text{HNO}_3$  y se enrasa a 25.0 mL.

Para realizar la medida potenciométrica se utiliza el método de inyección. Para ello se sumergen el electrodo de trabajo con el que estemos llevando a cabo la determinación y el de referencia en 50.0 mL de una disolución de  $\text{NaNO}_3$  0.10 mol  $\text{L}^{-1}$  a pH 3 y se espera hasta alcanzar un potencial estable. Entonces se añaden 2.50 mL de la disolución preparada de la muestra y se anota el aumento de potencial producido. El calibrado se realiza de la misma manera, sustituyendo la disolución de la muestra por disolución patrón de cromo (VI).

### 3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO (VI) Y CROMO (III) EN LIXIVIADOS DE VERTEDEROS.

Debido a la elevada cantidad de partículas en suspensión que contenía la muestra, se procedió a filtrar el lixiviado utilizando filtros de jeringa de acetato de celulosa con  $0.45\ \mu\text{m}$  de diámetro de poro. En función de la metodología analítica a aplicar se siguieron los procedimientos que se describen a continuación.

#### *Análisis mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito.*

La muestra tratada se diluye con  $\text{HNO}_3$   $0.10\ \text{mol L}^{-1}$  en relación 1:10. La medida se realiza por triplicado en las condiciones indicadas en el apartado 3.1.3.

#### *Análisis mediante Espectrofotometría UV-Vis.*

Se elimina la materia orgánica presente por adsorción sobre la resina XAD-8 (ver apartado 3.3.3.1). Se determinó la concentración de cromo (VI) del extracto así obtenido siguiendo el método de espectrofotometría por formación de complejo con DPCI. El proceso de determinación de cromo (VI) es el mismo que se describe en el apartado 3.3.3.2.

#### *Análisis mediante Potenciometría en FIA con electrodos serigrafiados.*

La muestra original se diluye diez veces con disolución de  $\text{NaNO}_3$   $0.10\ \text{mol L}^{-1}$  a pH de 3. Para la calibración se emplea el método de adición estándar. En un matraz aforado de 25.0 mL se pipetea volúmenes adecuados de patrón de analito, en concentración  $1.00 \times 10^{-3}\ \text{mol L}^{-1}$  para el cromo hexavalente y  $0.1000\ \text{mol L}^{-1}$  de la especie trivalente, y se enrasa con la muestra diluida. Cada una de estas disoluciones se inyecta tres veces en el sistema FIA.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



## 4.1. RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL SISTEMA DE MEDIDA EN ESTÁTICO.

En este apartado se van a establecer los parámetros analíticos básicos que caracterizarán los sensores potenciométricos desarrollados. Se ha planteado la memoria presentando estos sensores de forma conjunta según la naturaleza del estructurante (pasta de carbón modificada o material rígido polimérico) de forma que pueda compararse, para el mismo tipo de sensor, las diferentes características obtenidas para los sensores diseñados para cromo (VI) y para cromo (III).

Cada sección se ha dividido en dos partes. En la primera se describen los resultados obtenidos para los sensores basados en membranas de pasta de carbón modificada y en la segunda se describen los correspondientes a los sensores basados en materiales rígidos poliméricos. A su vez los resultados se subdividen entre los obtenidos para el sensor modificado con DPCI, selectivo a cromo hexavalente, y los obtenidos para el sensor modificado con DHPE, selectivo a cromo trivalente.

En primer lugar se evaluó la influencia de la composición del material en la respuesta potenciométrica siendo especialmente relevante establecer el porcentaje de modificador más adecuado. En base a esos resultados se planteó una hipótesis sobre el mecanismo que da lugar a la respuesta del sensor a los analitos. Posteriormente se procedió a estudiar la influencia del electrolito soporte y del pH de la disolución de medida estableciendo así las condiciones óptimas de medida. Una vez establecidas dichas condiciones, se caracterizó el tiempo de respuesta y se determinaron los intervalos de respuesta lineal y los límites de detección para cada uno de los sensores desarrollados. Finalmente, se calcularon los coeficientes de selectividad para los posibles interferentes que pueden influir en la respuesta de los sensores a los correspondientes analitos.

### 4.1.1 INFLUENCIA DEL PORCENTAJE DE MODIFICADOR.

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han demostrado que el porcentaje de modificador presente en la pasta de carbón condiciona la respuesta potenciométrica de los sensores, especialmente el límite de detección y la sensibilidad [Gismera y col., 2003; Gismera y col., 2004; Gismera y col., 2006]. De acuerdo con

estos resultados, en este apartado se estudia la respuesta potenciométrica al analito dada por sensores de diferente composición siendo especialmente relevante la cantidad de modificador existente.

##### 4.1.1.1 SENSORES DE PASTA DE CARBÓN.

Para caracterizar la variación en la respuesta de los sensores de pasta de carbón con el cambio en su composición, se prepararon membranas con diferente relación en sus componentes, en las que el porcentaje de modificador varía entre el 5 y el 50 %. En todas ellas la cantidad de aceite de parafina frente a la de la mezcla polvo de grafito-modificador permanece constante, por tanto sólo se varía la relación grafito/modificador. El aumento del porcentaje de modificador frente a grafito, aumenta el grado de interacción con el analito pero reduce la conductividad de la membrana.

Se evaluó la respuesta potenciométrica de estos sensores que contienen distintos porcentajes de modificador y de un sensor de pasta de carbón sin modificar, en función de la concentración del analito en disolución, para el intervalo de concentraciones comprendido entre  $1.00 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> y  $1.00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Las características de las respuestas obtenidas para los distintos sensores preparados con DPCI y DHPE en el análisis de cromo (VI) y cromo (III), en función de la composición de la pasta de carbón utilizada en cada caso se resumen en las tablas 4.1 y 4.2.

En ausencia de modificador se observa un pequeño aumento del potencial en función de la concentración de cromo, de unos 4 mV década<sup>-1</sup> para cromo (VI) y 6 mV década<sup>-1</sup> para el cromo (III). La respuesta de un electrodo de pasta de carbón sin modificar a los iones en disolución se ha observado y descrito para otros iones como cobre (II) [Hu y Leng, 1995], plata (I) [Pei y col., 1991] y sulfuro [Hu y Leng, 1996]. En dichos trabajos, se ha supuesto que dicha respuesta es consecuencia de la adsorción del analito sobre la superficie de la membrana [Shamsipur y col., 2004; Pei y col., 1991; Hu y Leng, 1995].

La presencia del modificador en la superficie del electrodo provoca un gran incremento en la sensibilidad de la respuesta potenciométrica. Estos resultados indican una elevada selectividad de los modificadores para el cromo (VI) y el cromo (III).



**Tabla 4.1.** Características de la respuesta potenciométrica para el Cr (VI) en función del porcentaje de DPCI en la pasta de carbón. Condiciones de medida:  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$  a pH 3.0.

Polvo de grafito (mg)	DPCI (mg)	Aceite de parafina (mg)	Porcentaje de DPCI	Intervalo de respuesta lineal ( $\log C_{\text{Cr(VI)}}$ , $\text{mol L}^{-1}$ )	Pendiente ( $\text{mV d}^{-1}$ )
200	0	50	0	-6.00 a -2.00	4.0
190	10	50	4	-4.50 a -2.00	85.1
170	30	50	12	-4.50 a -2.00	75.4
150	50	50	20	-6.00 a -2.00	56.2
130	70	50	28	-5.00 a -2.00	69.1

**Tabla 4.2.** Características de la respuesta potenciométrica para el Cr (III) en función del porcentaje de DHPE en la pasta de carbón. Condiciones de medida:  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$  a pH 3.0.

Polvo de grafito (mg)	DHPE (mg)	Aceite de parafina (mg)	Porcentaje de DHPE	Intervalo de respuesta lineal ( $\log C_{\text{Cr(III)}}$ , $\text{mol L}^{-1}$ )	Pendiente ( $\text{mV d}^{-1}$ )
200	0	50	0	-5.00 a -3.00	6.6
190	10	50	4	-5.00 a -3.00	19.8
170	30	50	12	-6.00 a -3.00	20.2
150	50	50	20	-6.00 a -3.00	20.5

Asumiendo que el sensor es sensible al ión predominante del cromo (VI) a pH ácido,  $\text{HCrO}_4^-$ , podemos observar que todos los electrodos modificados con DPCI (tabla 4.1) presentan una respuesta super-Nernstiana, con pendientes superiores a la esperada de  $59 \text{ mV d}^{-1}$ , excepto el electrodo que contiene el 20% de modificador para el que se observa una pendiente próxima a una respuesta Nernstiana. El mayor intervalo de respuesta lineal se observa para el electrodo de esta composición. A porcentajes de modificador superiores al 28% la respuesta se hace

errática obteniendo señales más inestables. Este comportamiento es probablemente debido a la menor conductividad de la membrana como consecuencia del menor porcentaje de grafito.

Para los electrodos modificados con DHPE (tabla 4.2) se observaron los más amplios intervalos de respuesta lineal para aquellos sensores que contienen porcentajes de modificador del 12 y el 20 %. A diferencia del sensor para cromo (VI), todas las composiciones presentan un comportamiento Nernstiano asumiendo que el sensor es sensible al acuocomplejo de la especie cromo (III), lo que supone una pendiente de  $20 \text{ mV década}^{-1}$ . Para porcentajes de modificador superiores a un 20 % se vuelven a obtener señales con alta fluctuación e imprecisión que, como en el caso anterior, se deben a la menor conductividad de la membrana.

Como porcentaje óptimo de modificador en la composición final de la pasta de carbón se elige el 20 %, que corresponde a una relación de modificador frente a polvo de grafito del 1:3, ya que en ambos casos los sensores contruidos con esas membranas presentan los mayores intervalos de respuesta lineal y mejores límites de detección.

##### 4.1.1.2 SENSORES DE MATERIAL POLIMÉRICO.

Uno de los principales motivos por lo que se han utilizado materiales poliméricos como material aglutinante en el desarrollo de sensores potenciométricos es la obtención de membranas más robustas que las obtenidas con los sensores de pasta de carbón. Además, estos materiales pueden ser modificados con la misma facilidad que la pasta de carbón [Bidan y col., 1992]. Para el diseño de sensores, los materiales utilizados deben presentar buena resistencia física y química además de no reducir la conductividad de la membrana. La resistencia del material se evalúa sometiendo al material a diversas pruebas mecánicas sencillas como son pruebas manuales de resistencia del material al rayado y de resistencia a la torsión. Para ello se procedió a intentar rayar cada uno de los materiales con la uña considerándose suficientemente duros aquellos que no se veían afectados (equivalente a un 3 en la escala de Mohs) y descartando aquellos que se deformaban ante la presión ejercida por nuestras manos por resultar demasiado blandos [Ugural y Fenster, 1987].

Para el desarrollo de estas membranas, se eligieron dos materiales poliméricos que se diferencian en sus propiedades mecánicas y eléctricas: resinas epoxi y resinas de metacrilato. Ambos materiales polimerizan a temperatura ambiente. Esta propiedad permite evitar calentar la mezcla lo que podría alterar a los modificadores. Dentro de este estudio, primero se optimizó la cantidad de polímero necesaria para obtener un material suficientemente robusto para la construcción del sensor. Una vez seleccionado este parámetro se estudian las variaciones en la respuesta potenciométrica que dan lugar los cambios en el porcentaje de modificador en la membrana final.

### *Membranas de EPOFIX<sup>®</sup>*

Como se ha comentado anteriormente, en primer lugar se estableció la relación óptima de resina epoxi a mezcla sólida de carbón-modificador que permite obtener un material de membrana con las adecuadas propiedades mecánicas y eléctricas. Se prepararon materiales en los que la proporción de aglutinante variaba entre el 20 y el 80%. Se comprobó que materiales que contenían en su composición un porcentaje de resina inferior a un 40%, presentaban baja resistencia eléctrica pero su consistencia es plástica, lo que impide su pulido, por lo que los consideramos poco útiles como materiales de membranas. Por otra parte se observó que cuando el porcentaje de carbón en el material es inferior al 30%, la membrana no responde a la concentración de cromo en la disolución debido a su baja conductividad eléctrica. De acuerdo a estos resultados previos, el material de membrana óptimo debe contener un 50% de resina epoxi y al menos un 30% de carbón en su composición.

Bajo estas premisas, se estudió el efecto del porcentaje de modificador sobre la respuesta potenciométrica. Se construyeron sensores con un 50 % resina epoxi en los que se variaba la relación del modificador frente al polvo de grafito manteniendo siempre un porcentaje de carbón en la material entre el 30 y el 50 %. En las tablas 4.3 y 4.4 se reflejan los intervalos de respuesta lineal y las pendientes obtenidos para los sensores modificados con DPCI y DHPE, respectivamente, al variar el porcentaje de modificador de la membrana.

**Tabla 4.3.** Características de la respuesta potenciométrica para el Cr (VI) en función del porcentaje de DPCI en membranas de EPOFIX®. Condiciones de medida: NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup> a pH 3.0.

Polvo grafito (mg)	Modificador (mg)	Endurecedor (mg)	Polímero (mg)	Porcentaje DPCI	Intervalo respuesta lineal (log C <sub>Cr(VI)</sub> , mol L <sup>-1</sup> )	Pendiente (mV déc <sup>-1</sup> )
250	0			0	Sin respuesta	
225	25			5	-5.50 a -3.00	62.8
		30	220			
185	65			13	-6.00 a -3.00	59.7
150	100			20	-5.50 a -3.00	55.6

**Tabla 4.4.** Características de la respuesta potenciométrica para el Cr (III) en función del porcentaje de DHPE en membranas EPOFIX®. Condiciones de medida: NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup> a pH 3.0.

Polvo grafito (mg)	Modificador (mg)	Endurecedor (mg)	Polímero (mg)	Porcentaje DHPE	Intervalo respuesta lineal (log C <sub>Cr(III)</sub> , mol L <sup>-1</sup> )	Pendiente (mV déc <sup>-1</sup> )
250	0			0	Sin respuesta	
225	25			5	-4.50 a -2.00	17.0
		30	220			
185	65			13	-5.00 a -2.00	18.8
150	100			20	-4.00 a -2.00	55.6

En ausencia de modificador ninguno de los dos sensores presenta respuesta a cambios en la concentración del ión en disolución, a diferencia de lo observado con los sensores de pasta de carbón (tablas 4.1 y 4.2). Estos resultados indican que no se produce la adsorción del cromo (VI) y cromo (III) en esta membrana polimérica a diferencia de lo observado para los sensores de pasta de carbón sin modificar.

Atendiendo a las características de la respuesta potenciométrica en presencia de modificador, se observa que para el sensor modificado con DPCI la sensibilidad al cromo (VI) disminuye ligeramente al aumentar el porcentaje de modificador. Las respuestas obtenidas son cuasi-Nernstianas para todos los sensores

asumiendo carga uno para el ión en disolución. Por otra parte, para el sensor que contiene un 13% de modificador se observa un mayor intervalo lineal de respuesta, en media década, a concentraciones más bajas del analito.

A diferencia del sensor para cromo (VI), la respuesta obtenida para el sensor modificado con DHPE es diferente. Para un porcentaje de modificador del 20% se observa un intervalo de respuesta muy corto y una respuesta super-Nernstiana. Para los dos porcentajes de modificador más bajos se obtienen sensibilidades similares siendo las respuestas muy próximas a las Nernstianas. Nuevamente con el electrodo que contiene un 13% de DHPE se obtiene un intervalo de respuesta lineal mayor llegando a concentraciones de cromo (III) de  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

Los resultados obtenidos para los estudios con ambos modificadores dan como porcentaje óptimo de modificador en la composición final de las distintas membranas el 13%. Este resultado supone una relación de modificador a polvo de grafito de 1:3, dato que coincide con la relación óptima obtenida para los sensores de pasta de carbón modificada. Por tanto, el material rígido polimérico constituido por la resina epoxi de los sensores tiene la siguiente composición: 50% Epofix<sup>®</sup>, 37% polvo de grafito y 13% de modificador.

### *Membranas de METAFIX<sup>®</sup>*

Los polímeros, en general, son pobres conductores de la electricidad. Sin embargo, existen algunos que pueden presentar conductividad intrínseca [Stevens, 1999]. En estos casos, la conductividad eléctrica se origina en la conjugación extendida de los electrones  $\pi$  a lo largo de la cadena polimérica o en los sustituyentes de ésta [Chandrasekhar, 1992]. Las membranas preparadas con METAFIX<sup>®</sup> tienen como base metacrilato y por tanto dobles enlaces en todos los sustituyentes de la cadena polimérica, por lo que este material puede presentar cierta conductividad eléctrica. De acuerdo con esta idea, se preparan dos tipos de membranas con este reactivo, unas que contienen polvo de grafito en su composición y otras a las que no se añade grafito.

Cuando se preparan membranas que sólo contienen el polímero y el modificador se comprueba que para porcentajes del primero de un 40% o superior se

obtienen materiales de dureza y rigidez adecuada, pero todos ellos presentan muy baja conductividad eléctrica, por lo que no es posible registrar adecuadamente la señal potenciométrica. Este resultado nos llevó a preparar membranas con polvo de grafito en su composición para aumentar la conductividad.

En las membranas que incluyen en su composición el polvo de grafito, cuando el porcentaje de carbón es superior al 50%, se obtienen materiales de carácter plástico, lo que les hace menos adecuados para la preparación de sensores robustos, debido a la dificultad de pulido para la renovación de la superficie. Si se disminuye el porcentaje de carbón en la composición del material mejoran considerablemente sus propiedades mecánicas, principalmente la rigidez, sin tener pérdidas significativas en su conductividad eléctrica.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para los sensores de pasta de carbón y los basados en la membrana polimérica de EPOFIX<sup>®</sup>, para la preparación de la membrana con aglutinante METAFIX<sup>®</sup> se mantiene una relación 1:3 de modificador frente a polvo de grafito, variando el porcentaje de polímero METAFIX<sup>®</sup> en la mezcla desde el 50 hasta el 94%.

Las respuestas potenciométricas obtenidas para los sensores diseñados con membranas de METAFIX<sup>®</sup> para cromo (VI) se reflejan en la tabla 4.5. En ausencia de modificador los sensores de membranas de METAFIX<sup>®</sup> no presentan respuesta potenciométrica en función de la concentración de cromo (VI). Se puede por tanto considerar que no se produce la adsorción del analito en la membrana como en el caso de los sensores de membranas EPOFIX<sup>®</sup>.

Todos los sensores que contienen modificador presentan respuesta potenciométrica para el cromo (VI), incluso los que contienen bajos porcentajes de polvo de grafito. Este hecho pone de manifiesto la conductividad intrínseca del polímero METAFIX<sup>®</sup> no siendo necesario superar en la composición final de la membrana un 30% de carbón como sucede cuando empleamos como polímero el EPOFIX<sup>®</sup>.

**Tabla 4.5.** Características de la respuesta potenciométrica para sensores de cromo (VI) de material polimérico METAFIX<sup>®</sup> que incluyen el polvo de grafito y DPCI en su composición. Condiciones de medida: NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup> a pH 3.0.

Polvo de grafito (mg)	Modificador (mg)	Polvo metacrilato (mg)	Líquido activación (mg)	Porcentaje METAFIX <sup>®</sup>	Porcentaje DPCI	Intervalo respuesta lineal (log C <sub>Cr(VI)</sub> , mol L <sup>-1</sup> )	Pendiente (mV déc <sup>-1</sup> )
30	0	325	140	94	0	Sin respuesta	
35	12	315	135	91	2.4	-5.00 a -3.00	32.8
75	25	280	120	80	5	-5.00 a -3.00	48.8
120	40	245	110	69	7.8	-5.00 a -3.00	60.2
150	50	210	90	60	10	-5.00 a -3.00	79.7
225	75	210	90	50	12.5	-5.00 a -3.00	105

Los intervalos de respuesta obtenidos por todos los sensores son iguales mientras que la sensibilidad de la respuesta aumenta con el porcentaje de modificador en la mezcla, siendo Nernstiana para el que contiene un 7.8% de DPCI.

Se preparan también sensores potenciométricos con membranas basadas en el polímero METAFIX<sup>®</sup> empleando como modificador DHPE. Se ensayaron distintos porcentajes de modificador tanto en ausencia como en presencia de polvo de grafito en la composición de la membrana. Ninguno de los sensores presenta respuesta potenciométrica en función de la concentración de cromo (III). En todos los casos el valor del potencial no se ve alterado cuando la concentración de cromo (III) de la disolución de medida aumenta desde 1.00x10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup> hasta 1.00x10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>.

En general, para todos los porcentajes de modificador ensayados, los materiales preparados con polvo de grafito y la resina de base metacrilato presentan menor rigidez y dureza que los preparados con carbono y la resina epoxi. Esta diferencia en la resistencia mecánica de los materiales probablemente se debe a que

las resinas de base metacrilato suelen ser más adecuadas para ‘embeber’ en su estructura partículas metálicas como, por ejemplo, la plata, y obtener polímeros que se conocen como dopados, mientras que las resinas de base epoxi suelen ser más adecuadas cuando se emplean partículas no metálicas como, por ejemplo, el polvo de grafito [Navratil y col., 2009-A].

Comparados ambos tipos de materiales poliméricos, los intervalos de respuesta lineal obtenidos por los sensores preparados con membranas de METAFIX<sup>®</sup> son más estrechos que los de los sensores con membranas de EPOFIX<sup>®</sup>. Debido a las peores propiedades mecánicas y peores respuestas potenciométricas que presentan las membranas preparadas con la resina METAFIX<sup>®</sup>, el resto de los estudios se realizará con sensores basados en las membranas de EPOFIX<sup>®</sup>.

##### 4.1.2. CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES.

Además de la caracterización de la respuesta electroquímica se ha estudiado la superficie de los sensores empleando las técnicas de Microscopía de barrido electrónico (*Scanning Electron Microscopy*, SEM) y la Espectroscopía de Emisión de rayos-X de energía dispersiva (*Energy Dispersive Analysis by X-ray*, EDAX). El objetivo de emplear estas técnicas de superficie es la obtención de imágenes de la morfología superficial de los sensores y la distribución de la especie formada en la superficie del electrodo entre el modificador y el ión metálico.

Un microscopio de barrido electrónico usa un haz de electrones enfocado con precisión para revelar las características detalladas de la superficie de la muestra y aportar información referente a su estructura tridimensional. Cuando el haz de electrones incide sobre la superficie a analizar tienen lugar diferentes interacciones entre las que destacan la emisión de electrones secundarios y de primarios rechazados. Si estos electrones se recogen y amplifican pueden utilizarse para crear una imagen topográfica de la superficie de la muestra. El haz de electrones recorre repetidamente la muestra al tiempo que un tubo catódico recoge los electrones emitidos permitiendo digitalizar la imagen.

La Espectroscopía de Emisión de rayos-X de Energía Dispersiva permite el análisis elemental de la superficie del material midiendo el espectro de emisión de



rayos X provocado por la interacción con un haz de electrones. Como cada elemento tiene un espectro de emisión de rayos X característico, la composición de la muestra puede determinarse en función de la radiación detectada. El empleo de esta técnica combinada con la microscopía de barrido electrónico permite establecer una distribución de los diferentes elementos de la muestra en la superficie analizada. Tiene la limitación de que algunos átomos no son diferenciables por su espectro de rayos X, como el carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno. El EDAX permite obtener la información en un punto concreto o de una zona de la superficie de la muestra. Mediante el uso de esta técnica se puede conocer la distribución del cromo en la superficie de los sensores en función de su morfología.

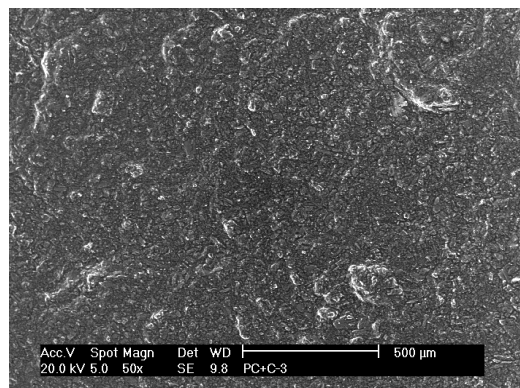
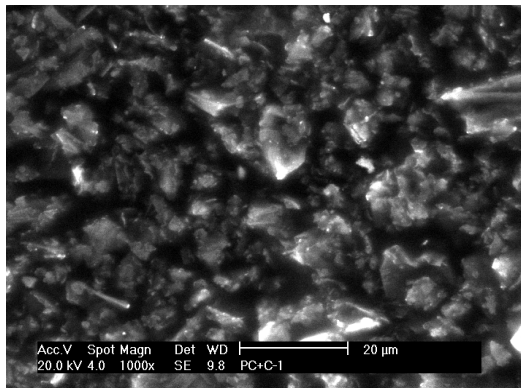
Para llevar a cabo estos estudios, se analiza la superficie de un sensor sin modificador y la superficie de un sensor modificado y de otro previamente activado y aclarado con abundante agua ultrapura para evitar la presencia de este elemento por restos de la disolución de activación. En la superficie de cada sensor se estudiará la morfología de su superficie y la distribución superficial de la especie metálica formada.

#### 4.1.2.1 SENSORES DE PASTA DE CARBÓN.

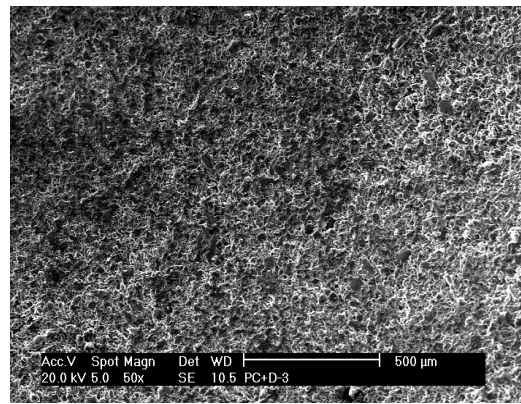
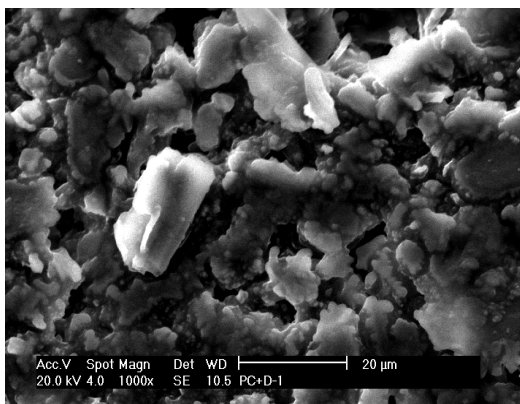
En primer lugar se presentan las imágenes tomadas mediante SEM de la superficie de los sensores de pasta de carbón sin modificar y modificada con DPCI y DHPE. Se han elegido dos ampliaciones distintas de cada superficie de tal forma que se vea la morfología de manera más precisa.

Las imágenes de las superficies de los sensores de pasta de carbón (figuras 4.1 a 4.6) presentan morfologías muy similares independientemente de la inclusión del modificador en su composición. En todos los casos se observan superficies homogéneas.

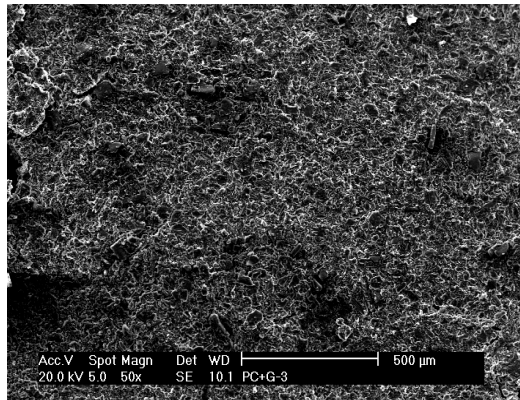
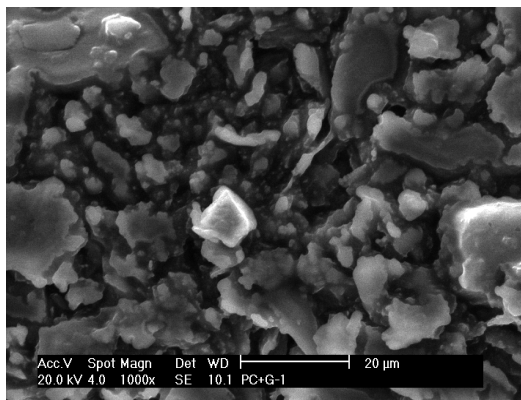
Para comprobar si existe alguna distribución particular del cromo en torno a las partículas de carbón o de modificador se elige una superficie de  $600\ \mu\text{m}^2$  para realizar un análisis EDAX. Debido a la homogeneidad de las superficies de los sensores, en cualquiera de las zonas elegidas se obtienen los mismos resultados.



**Figuras 4.1 y 4.2.** Imágenes SEM de la superficie del sensor de pasta de carbón sin modificar.



**Figuras 4.3 y 4.4.** Imágenes SEM de la superficie del sensor de pasta de carbón modificada con **DPCI**.

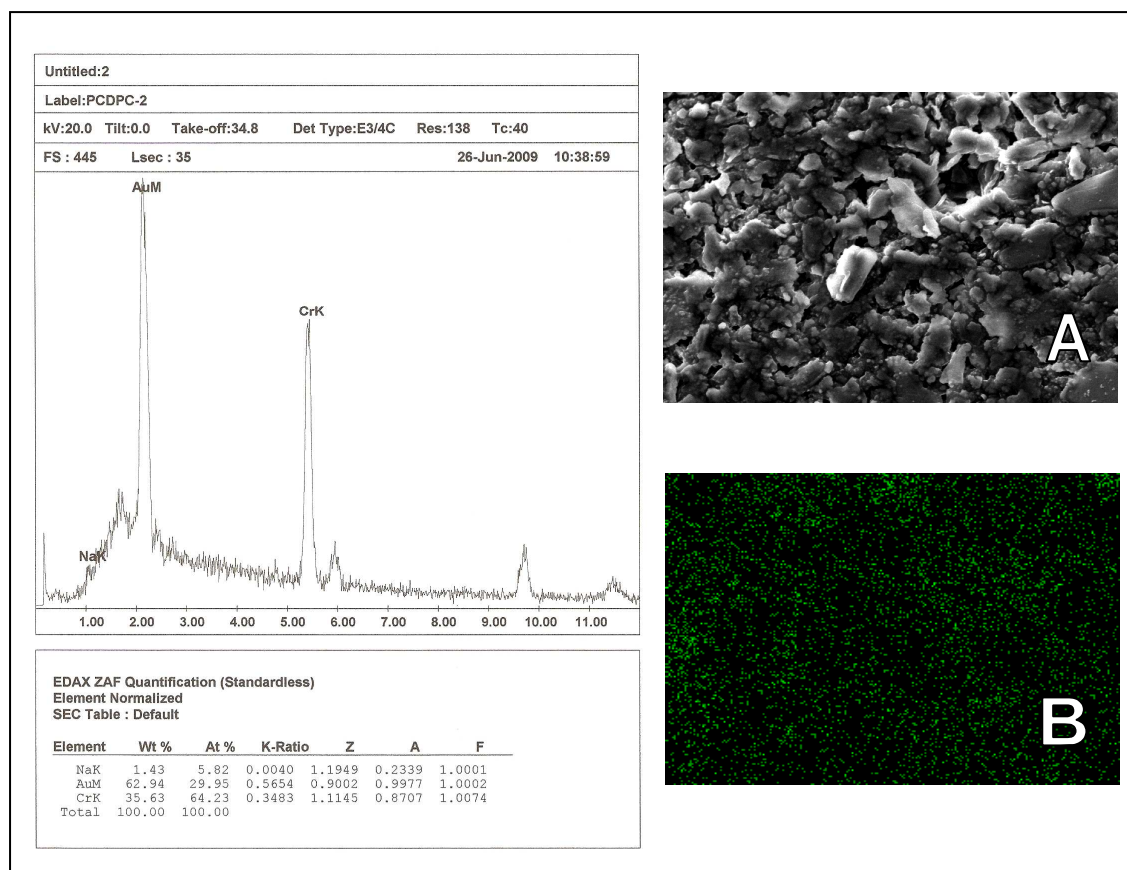


**Figuras 4.5 y 4.6.** Imágenes SEM de la superficie del sensor de pasta de carbón modificada con **DHPE**.

La DPCI y DHPE sólo contienen átomos de carbono, nitrógeno, hidrógeno y oxígeno en su estructura que no pueden ser detectados mediante esta técnica por lo que no se pueden distinguir del resto de los componentes de la matriz del sensor, ni situar su presencia en la superficie analizada.

Únicamente en los sensores de pasta de carbón modificados que previamente han sido activados aparece una señal en el espectro correspondiente al cromo, lo que constata su presencia en la superficie de los sensores.

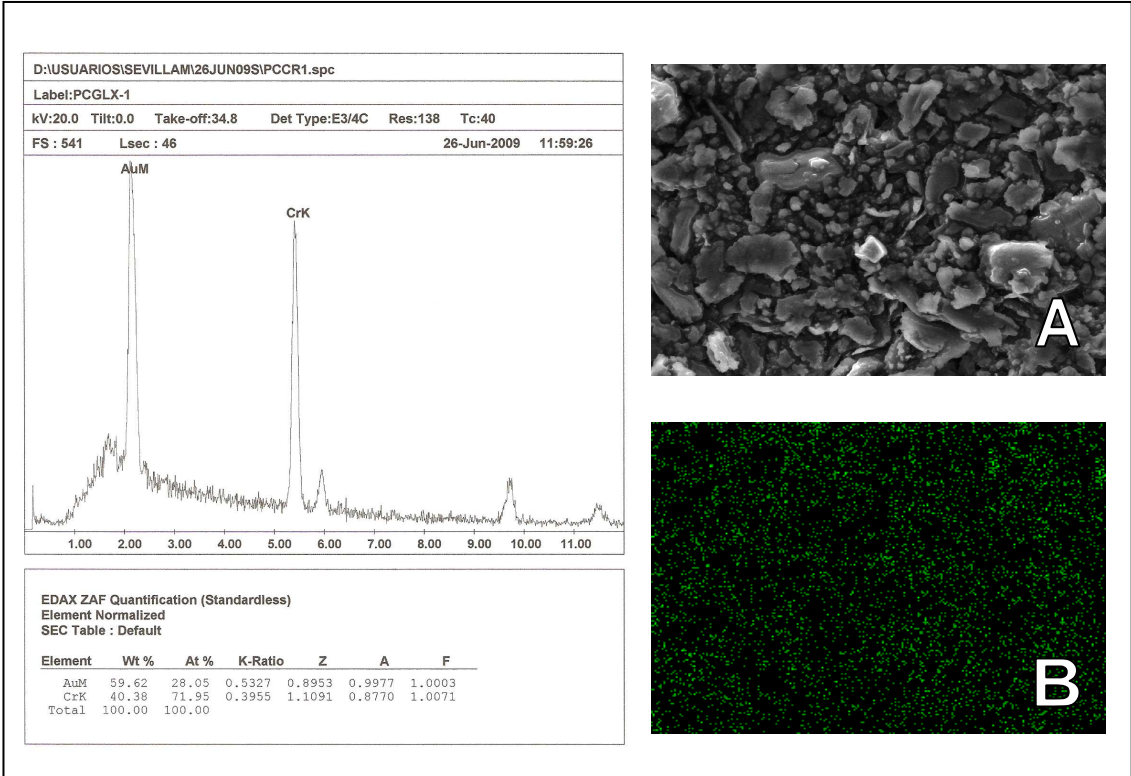
En el caso del sensor modificado con DPCI, como la intensidad de la señal fue suficientemente alta se llevó a cabo el mapa de densidades atómicas para conocer la distribución del elemento (figura 4.7).



**Figura 4.7.** EDAX de la superficie del sensor de pasta de carbón modificada con **DPCI**, previamente activado. A la izquierda se presenta el espectro de emisión de rayos X. La imagen A corresponde a la imagen tomada por SEM de la zona analizada. La imagen B es el mapa de densidades atómicas de la misma zona donde aparece resaltado en color verde el cromo encontrado.

El mapa de densidades atómicas, donde podemos ver resaltado en color verde las zonas donde se ha detectado al cromo, muestra una distribución del elemento homogénea.

En la figura 4.8 se expone el estudio realizado para el sensor de pasta de carbón modificada con DHPE sobre una zona de idénticas dimensiones al modificado con DPCI, que previamente ha sido activado con una disolución de cromo (III).

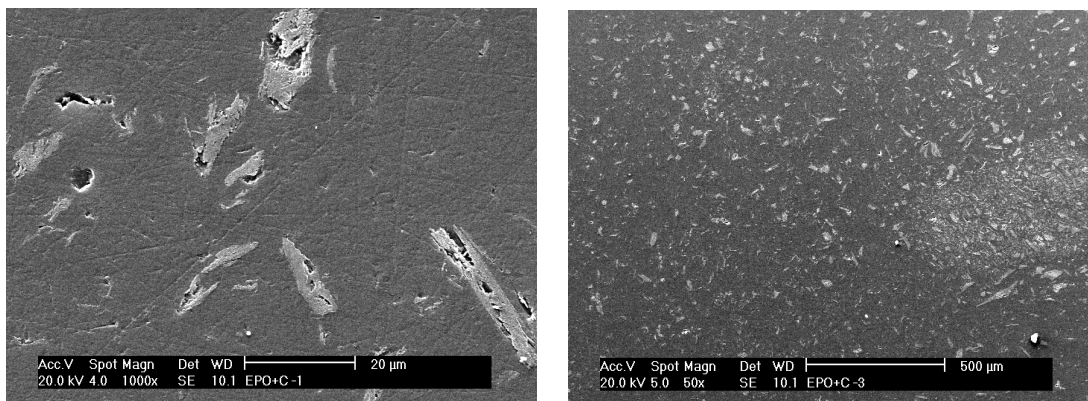


**Figura 4.8.** EDAX de la superficie del sensor de pasta de carbón modificada con **DHPE**, previamente activado. A la izquierda se presenta el espectro de emisión de rayos X. La imagen A corresponde a la imagen tomada por SEM de la zona analizada. La imagen B es el mapa de densidades atómicas de la misma zona donde aparece resaltado en color verde el cromo encontrado.

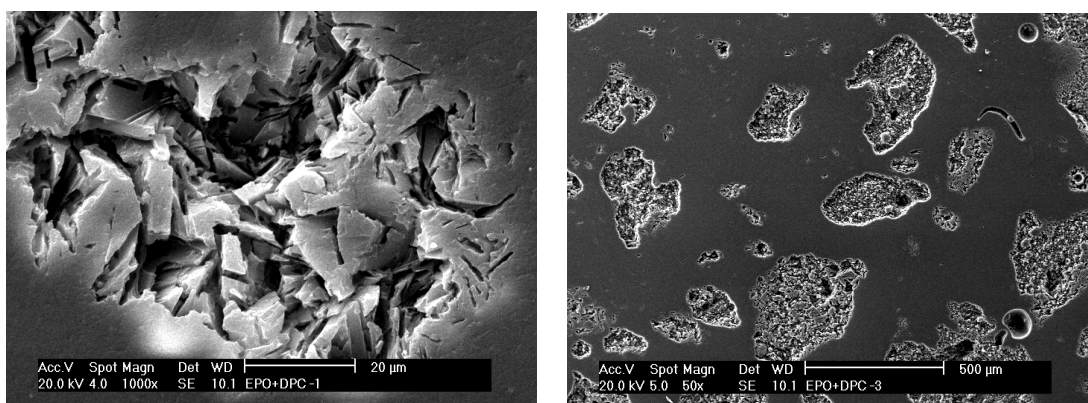
El resultado obtenido para el sensor de DHPE es similar al que se ha comentado respecto al sensor de DPCI, ya que la técnica es incapaz de distinguir entre las especies de un elemento obteniéndose la misma señal para el cromo (VI) que para el cromo (III). Vuelve a aparecer una señal que corresponde al cromo lo suficientemente intensa como para realizar el mapa de densidades atómicas, donde se observa una distribución homogénea del cromo (color verde) en la superficie del sensor.

#### 4.1.2.2 SENSORES DE MATERIAL POLIMÉRICO.

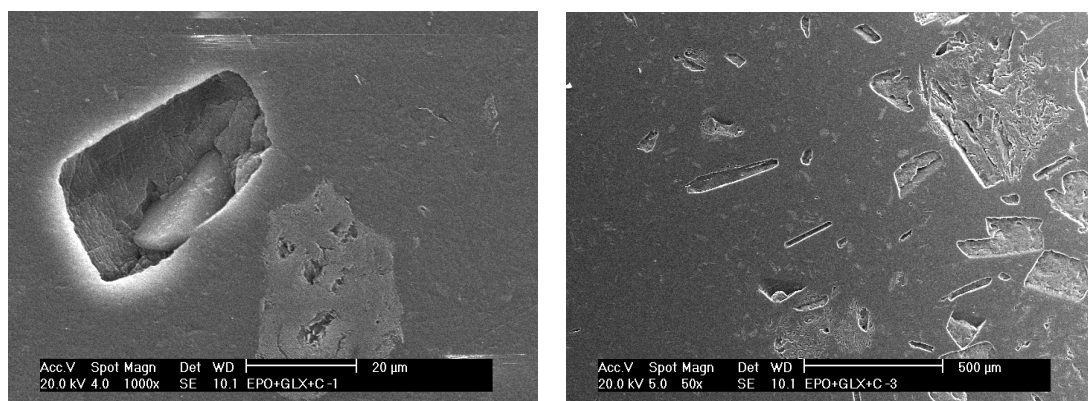
A continuación se presentan las imágenes obtenidas por SEM de la superficie de los sensores de material polimérico (figuras 4.9 a 4.14) tomadas a los mismos aumentos que las de los sensores de pasta de carbón.



**Figuras 4.9 y 4.10.** Imágenes SEM de la superficie del sensor de material polimérico sin modificar



**Figuras 4.11 y 4.12.** Imágenes SEM de la superficie del sensor de material polimérico con **DPCI**



**Figuras 4.13 y 4.14.** Imágenes SEM de la superficie del sensor de material polimérico con **DHPE**

Para este tipo de materiales si que se observan diferencias morfológicas entre los materiales poliméricos sin modificar y los que contienen modificadores y entre estos materiales y las pastas de carbón.

Las pastas de carbón son materiales blandos en comparación con los materiales rígidos poliméricos obtenidos con la resina epoxi. Además antes de comenzar la medida, la superficie de los electrodos de material polimérico se pule con pasta de diamante obteniendo entonces superficies que, a simple vista, pueden considerarse lisas. Las imágenes SEM de estos materiales (figuras 4.9 a 4.14) muestran superficies mucho menos rugosas que las de las pastas de carbón (figuras 4.1 a 4.6).

Los materiales rígidos poliméricos que no contienen modificador presentan una superficie más lisa y homogénea (figuras 4.9 y 4.10) que las que contienen DPCI (figuras 4.11 y 4.12) o DHPE (figuras 4.13 y 4.14) en su composición. Aunque en menor proporción y de menor tamaño, se observan surcos y agujeros producidos, probablemente, en el proceso de pulido de los sensores.

Cuando el material contiene DPCI o DHPE en su composición presenta defectos o agujeros en su superficie de mayor tamaño que los observados en el material polimérico sin modificador. Las figuras 4.11 y 4.13 muestran en detalle dos de estos 'defectos'. Las partículas de los modificadores tienen un tamaño inferior a  $32\text{ }\mu\text{m}$ , superior al tamaño de las partículas de carbón ( $1\text{ a }2\text{ }\mu\text{m}$ ). Tras la reacción de polimerización del material modificado algunas de estas partículas de modificador quedan en la superficie del sensor. En el proceso de pulido estas partículas pueden ser extraídas de la superficie del material dejando un hueco en el lugar que ocupaban y provocando la aparición de irregularidades en la superficie de mayor tamaño que en el material sin modificar.

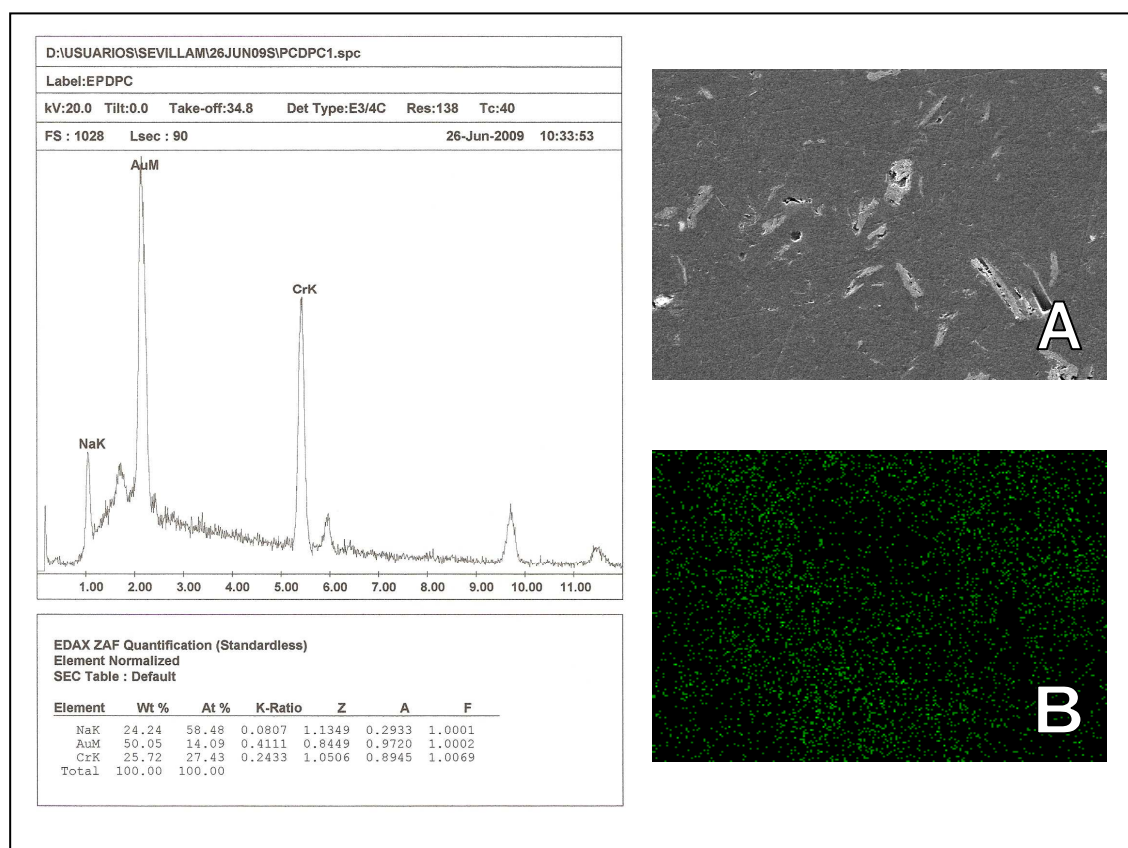
A continuación se procedió a realizar el análisis composicional mediante EDAX. Como ocurría con los sensores de pasta de carbón, las partículas de DPCI y DHPE no pueden ser detectadas por esta técnica, por lo que sólo se podrá determinar la presencia de cromo. Se elige la zona sobre la que hacer el análisis a la que se toma una imagen por SEM, se obtiene el espectro de dispersión de rayos X y, si encontramos al analito en cantidad suficiente, se realiza el mapa de densidades atómicas.

Como la superficie de estos sensores no es tan homogénea como la de pasta de carbón hay que elegir cuidadosamente la zona para que sea representativa de



toda la superficie. Por este motivo se analizó una superficie relativamente grande, de  $60000 \mu\text{m}^2$  (imagen de  $300 \times 200 \mu\text{m}$ ), que contuviese tanto zonas lisas como agujeros para saber como se situaba el cromo en la superficie.

Sólo se detecta el cromo en los análisis EDAX de las superficies de los sensores de material polimérico que contienen los modificadores y que previamente han sido activados. En la figura 4.15 se expone el resultado de este análisis para el sensor de material polimérico modificado con DPCI y en la figura 4.16 para el modificado con DHPE.

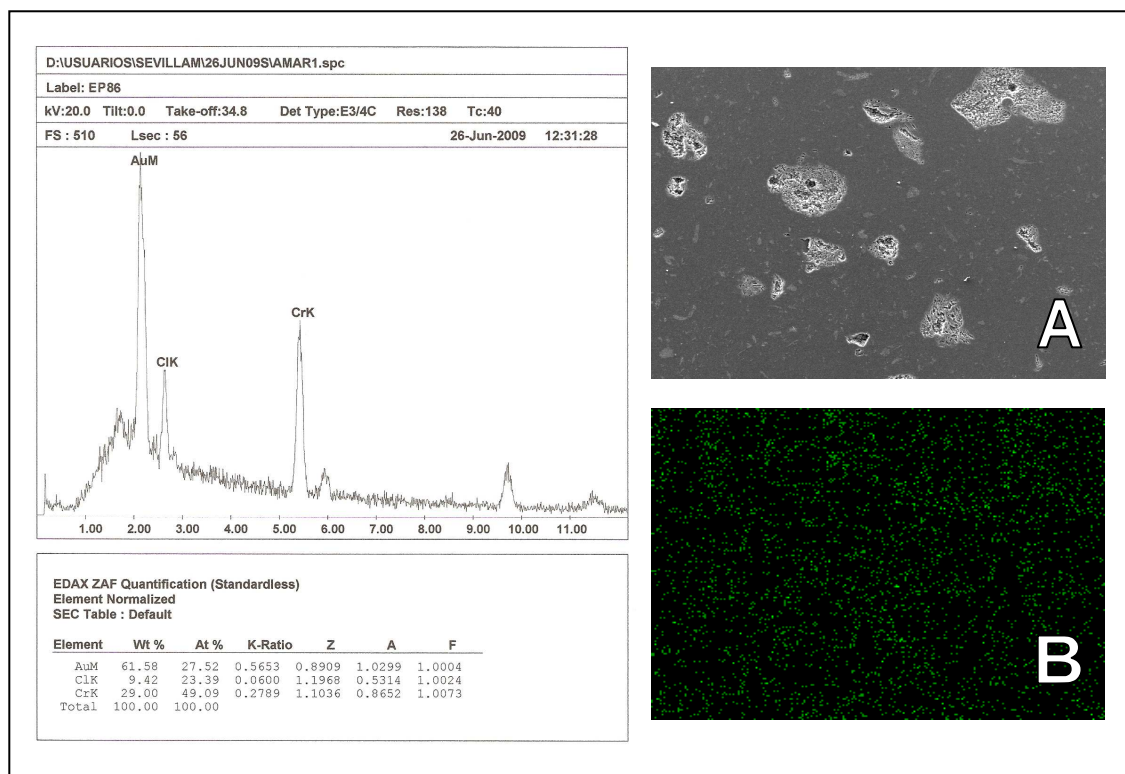


**Figura 4.15.** EDAX de la superficie del sensor de material polimérico modificado con **DPCI**, previamente activado. A la izquierda se presenta el espectro de emisión de rayos X. La imagen A corresponde a la imagen tomada por SEM de la zona analizada. La imagen B es el mapa de densidades atómicas de la misma zona donde aparece resaltado en color verde el cromo encontrado.

En el espectro de rayos X (parte izquierda de la figura 4.15) aparece una señal suficientemente elevada para el cromo por lo que fue posible realizar el mapeado de este elemento en la superficie analizada. La zona analizada contenía tanto huecos como zonas lisas como puede observarse en la imagen A de la figura 4.15. El mapa de densidades atómicas muestra una distribución homogénea del

cromo en la superficie del sensor de material polimérico, a pesar de que éste presenta defectos en su estructura.

A continuación (figura 4.16) se presenta el estudio EDAX del sensor de material polimérico modificado con DHPE. La superficie analizada tiene las mismas dimensiones que para el sensor modificado con DPCI.



**Figura 4.16.** EDAX de la superficie del sensor de material polimérico modificado con **DHPE**, previamente activado. A la izquierda se presenta el espectro de emisión de rayos X. La imagen A corresponde a la imagen tomada por SEM de la zona analizada. La imagen B es el mapa de densidades atómicas de la misma zona donde aparece resaltado en color verde el cromo encontrado.

Nos encontramos ante la misma situación que con el sensor modificado con DPCI, aunque morfológicamente sea una superficie heterogénea el resultado del análisis por energía dispersiva de rayos X indica que la distribución del cromo sobre dicha superficie si es homogénea.

Por lo tanto se puede afirmar que, en lo referido a la distribución del analito sobre la superficie de los sensores de pasta de carbón y de material polimérico, una vez han sido activados, los electrodos desarrollados presentan homogeneidad



independientemente de la naturaleza de la matriz en la que se encuentra el modificador.

#### 4.1.3 MECANISMO DEL PROCESO ELECTRÓDICO.

Muchas de las características de los sensores potenciométricos, como son su sensibilidad y selectividad, son consecuencia del proceso electródico que regula su respuesta. En este apartado se proponen los mecanismos a los que se debe la respuesta potenciométrica del sensor de cromo (III) y del sensor de cromo (VI).

##### 4.1.3.1 MECANISMO DE LA RESPUESTA A CROMO (III).

El ligando seleccionado, el DHPE, forma un complejo estable con el cromo (III) de estequiometría 1:1 [Salah, 1995]. La respuesta potenciométrica del sensor modificado con DHPE al cromo (III) puede atribuirse a la formación del complejo en la superficie del electrodo. En este caso la respuesta del sensor se deberá al intercambio iónico entre los iones de cromo (III) que se encuentran en la superficie del sensor formando el complejo y los que están en la disolución de medida [Koryta y Stulik, 1983; Berube y col., 1989]. Si la concentración del ión que está en la superficie permanece constante la diferencia de potencial será proporcional al logaritmo de la actividad del analito en la disolución. Este es el motivo de que sea necesaria una activación del sensor previo a comenzar las medidas potenciométricas. En el proceso de activación se forma el complejo en la superficie del sensor que dará lugar a la diferencia de potencial con el que se puede determinar la concentración de cromo (III).

Cabe destacar que se ha obtenido una respuesta Nernstiana a este analito, puesto que la pendiente de las rectas de calibrado para todos los sensores desarrollados ha sido positiva, características de los cationes, y de un valor en torno a los 20 mV dec<sup>-1</sup> en la escala logarítmica.

##### 4.1.3.2 MECANISMO DE LA RESPUESTA A CROMO (VI).

Para el caso del otro analito, el cromo (VI), las pendientes para una respuesta Nernstiana deberían ser negativas como corresponde a un anión ya que se encuentra

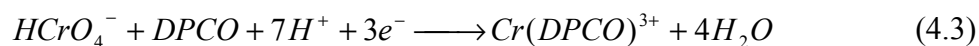
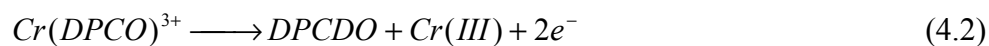
en forma de ión cromato. Pero los resultados experimentales muestran pendientes positivas en torno a los 59 mV dec<sup>-1</sup>.

En la bibliografía se encuentran referencias a sensores que responden a aniones con pendientes igualmente positivas [Fiol y col., 2007; Singh L. P. y col., 2005; Choi y Moon, 2001]. En el electrodo de membrana líquida selectivo a iones cromato desarrollado por Choi y Moon los autores atribuyen la pendiente positiva a la reducción del cromo (VI) a cromo (III) en la membrana [Choi y Moon, 2001]. En el trabajo de Fiol [Fiol y col., 2007] se explica ese comportamiento anómalo como un efecto de la matriz del material compuesto de naturaleza polimérica utilizado como membrana del sensor. En nuestro caso no podemos considerar válida esta explicación porque el mismo comportamiento se observa para los sensores de matrices rígidas poliméricas y para los electrodos de pasta de carbón.

En el sensor aquí desarrollado, se puede explicar esta pendiente positiva a partir del comportamiento electroquímico de las especies DPCI y cromo (VI) en la superficie del sensor. Estudios voltamperométricos con electrodos de membrana sólida modificados con DPCI demuestran la formación del complejo Cr(III)-DPCO al poner en contacto el electrodo con una disolución de cromo hexavalente [Malakhova y col., 1991; Paniagua y col., 1993; Sanchez-Fernandez y col., 2005] según la siguiente reacción (4.1):

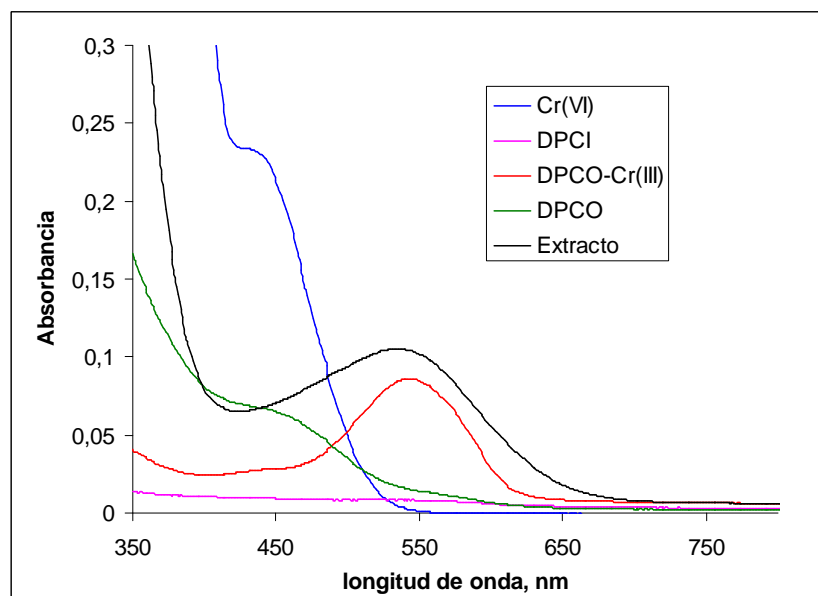


En estos trabajos, el voltamograma cíclico obtenido para el complejo formado entre el cromo (III) y la DPCO en la superficie del sensor tiene un pico anódico asociado a la oxidación del Cr (III)-DPCO a cromo (III) y difenilcarbadiazona (DPCDO, en adelante) (4.2). La reducción en la superficie del electrodo del cromo (VI) al complejo Cr (III)-DPCO con el DPCO presente en dicha superficie (4.3) ya ha sido descrita [Paniagua y col., 1993]. En base a estos datos bibliográficos puede asumirse que se establece un potencial mixto en el que están involucradas las reacciones que se detallan a continuación y que tienen lugar en la superficie del electrodo.



De acuerdo a éste mecanismo mixto, un incremento en la concentración de cromo (VI) en la disolución (especie oxidada del sistema) producirá un aumento en el potencial del sistema y por tanto se obtendrán pendientes positivas en las curvas de calibrado para este analito.

Para corroborar este resultado se llevó a cabo el estudio de la formación del complejo Cr(III)-DPCO en la superficie del sensor activado. Para ello se ha empleado pasta de carbón modificada con DPCI con una composición igual a la empleada para la construcción de los electrodos. Durante 4 horas, se puso en contacto la pasta de carbón modificada con una disolución del analito en las condiciones de medida potenciométrica. Una vez producida la activación del electrodo, se retiró la disolución de cromo (VI) y se llevó a cabo la extracción del complejo formado en la superficie del electrodo con acetona, en la cual es soluble el complejo Cr(III)-DPCO. Tras dicha extracción, se realiza el espectro de absorción molecular, entre 350 y 800 nm, frente a un blanco obtenido mediante la extracción de una pasta de carbón modificada sin activar.



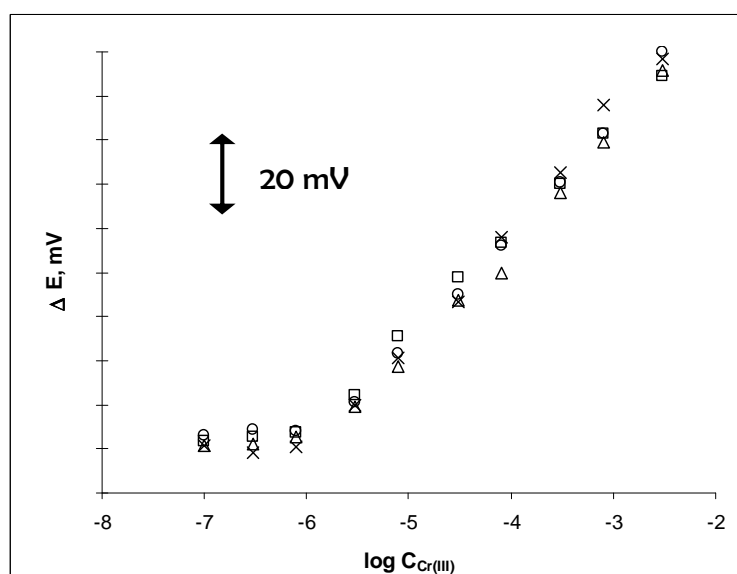
**Figura 4.17.** Espectro de absorbancia del extracto en acetona de la pasta de carbón modificada y puesta en contacto con una disolución de Cr(VI) comparado con los espectros de disoluciones preparadas en el laboratorio.

En la figura 4.17 se compara el espectro del extracto obtenido con los espectros de la disolución de cromo (VI) utilizada en el proceso de activación que se recoge tras finalizar éste, disoluciones de los ligandos DPCI y DPCO en acetona y una disolución de complejo Cr(III)-DPCO formado por reacción de cromo (VI) y DPCI en acetona. Puede observarse que la morfología de los espectros del Cr(III)-DPCO formado en disolución y del extracto son similares, lo que confirma la formación del complejo en la superficie del sensor. Además, se puede comprobar con este estudio que, en las condiciones de medida, no se produce la lixiviación del complejo desde la superficie del electrodo.

#### 4.1.4 INFLUENCIA DEL ELECTROLITO SOPORTE Y DEL pH.

La medida del potencial con los sensores desarrollados se ha llevado a cabo en disoluciones que contenían una concentración fija de electrolito soporte para mantener constante la fuerza iónica en el transcurso de los diferentes experimentos realizados. Inicialmente se hizo un estudio del efecto que ejerce la concentración y naturaleza del electrolito soporte sobre la respuesta potenciométrica con la finalidad de elegir la sal más adecuada.

Se ensayaron como electrolitos disoluciones de NaCl, KCl, KNO<sub>3</sub> y NaNO<sub>3</sub> en concentraciones comprendidas entre  $1.0 \times 10^{-3}$  y  $1.0 \text{ mol L}^{-1}$ . Atendiendo a la estabilidad de la señal y a la sensibilidad frente al analito, no se encontraron diferencias significativas en la respuesta de los diferentes sensores al variar la concentración y la naturaleza del electrolito soporte. En la figura 4.18, donde se refleja la respuesta potenciométrica obtenida para el sensor de pasta de carbón modificada con DHPE para el cromo (III) en los electrolitos ensayados en concentración  $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ , puede verse este comportamiento. Se eligió una disolución de NaNO<sub>3</sub>  $0.10 \text{ mol L}^{-1}$  como electrolito soporte para el resto de los estudios. Este electrolito se ha empleado con buenos resultados en medidas potenciométricas con otros sensores desarrollados por el grupo de investigación [Gismera y col., 2003; Gismera y col., 2004; Gismera y col., 2006].



**Figura 4.18.** Respuesta potenciométrica del sensor de pasta de carbón modificada con DHPE al Cr (III) en presencia de distintos electrolitos soporte en concentración  $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ : NaNO<sub>3</sub> (○), NaCl (△), KNO<sub>3</sub> (x) y KCl (□).

Una vez seleccionado el electrolito soporte, se estudió la variación de la respuesta potenciométrica en función del pH del medio. Para ello se varió el pH de la disolución que contenía electrolito soporte y el analito a valores comprendidos entre 2 y 10 mediante la adición de pequeños volúmenes de disoluciones concentradas de ácido nítrico e hidróxido sódico. Después de cada adición de ácido o de base se miden los valores del potencial y del pH de la disolución cuando la respuesta de ambos sensores potenciométricos se estabiliza.

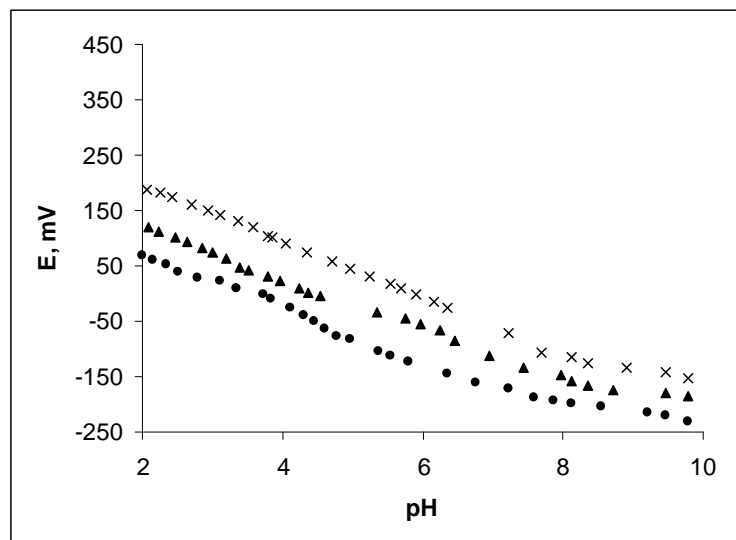
Los modificadores seleccionados para la medida son bases débiles (DPCI:  $pK_{a2} = 9.98 \pm 0.43$  y  $pK_{a1} = 3.76 \pm 0.38$ ; DHPE:  $pK_{a2} = 9.46 \pm 0.35$  y  $pK_{a1} = 1.10 \pm 0.50$ ) por lo que inicialmente cabría esperar que puedan presentar una cierta variación del potencial en función del pH debido al intercambio o adsorción de este ión. Para comprobarlo se realizó el mismo estudio en ausencia del analito. Además, como la matriz que constituye la membrana de los electrodos puede presentar una respuesta al pH del medio también se realizó el mismo estudio sin la incorporación de los modificadores en la superficie del electrodo.

##### 4.1.4.1. SENSORES DE PASTA DE CARBÓN.

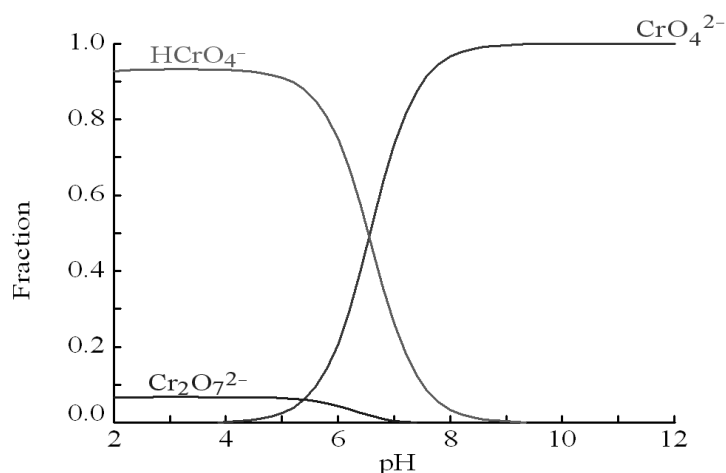
Las respuestas potenciométricas de los electrodos de pasta de carbón sin modificar y modificados con un 20% de DPCI, éste último en presencia y en ausencia de cromo hexavalente en la disolución, se muestran en la figura 4.19. Como puede observarse en las representaciones gráficas de potencial frente a pH, en ausencia de modificador se observa una variación lineal del potencial con el pH en torno a  $-50 \text{ mV pH}^{-1}$ . Si el electrodo utilizado está modificado con DPCI la variación en el potencial producida por el pH de la disolución de medida es similar, de  $-45 \text{ mV pH}^{-1}$ . En presencia de cromo (VI)  $3.2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , también se observa un comportamiento lineal en todo el margen de pH investigado, con una pendiente igual:  $-45 \text{ mV pH}^{-1}$ .

Para tratar de explicar este fenómeno y determinar cual es el pH adecuado de trabajo nos fijaremos en la distribución de las especies del cromo hexavalente en disolución en función del pH. La figura 4.20 muestra la distribución de estas especies para una concentración total de cromo (VI)  $1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Como se observa en dicha figura, el cromo (VI) está presente en disolución principalmente como cromato, cromato ácido y dicromato. En el intervalo de pH entre 2 y 7, la especie

predominante es el cromato ácido monovalente, por lo que en principio su comportamiento ácido-base en disolución no debería afectar a la respuesta potenciométrica de los sensores. De acuerdo a todos estos datos, la variación del pH en presencia de cromo es debida al mismo factor que provoca la variación de potencial en su ausencia, probablemente el intercambio o adsorción de protones por la pasta de carbón.



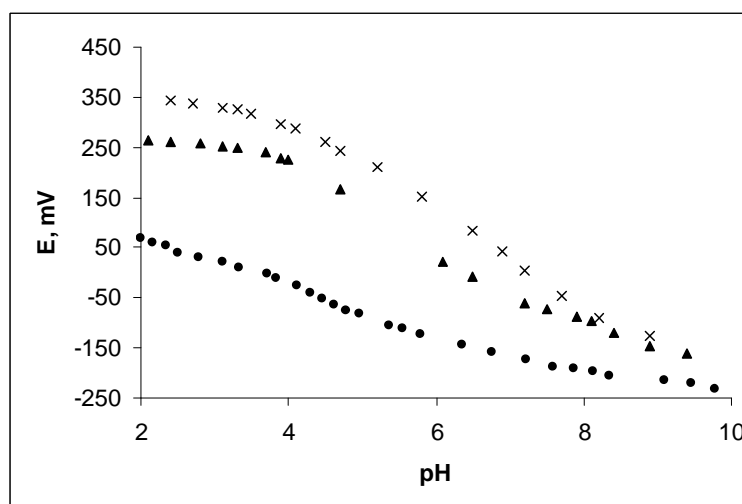
**Figura 4.19.** Respuesta potenciométrica del sensor de pasta de carbón sin modificar (●), modificado con un 20 % de DPCI en ausencia (▲) y en presencia de Cr (VI)  $3.20 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  (x) en función del pH de la disolución. Electrolito soporte:  $NaNO_3$  0.10 mol  $L^{-1}$ .



**Figura 4.20.** Representación de la fracción molar de las especies de Cr (VI) en función del pH para una concentración de Cr (VI)  $1.00 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$ . Calculadas mediante software MEDUSA.

Para llevar a cabo la elección del pH óptimo para la medida nos basamos en estudios previos de la reacción de cromo (VI) con DPCI. En dichos estudios se ha determinado que el mejor valor de pH para el desarrollo de la reacción está comprendido entre 2 y 3 [Willems y col., 1977]. Se elige un pH de 3 para llevar a cabo la medida de los potenciales debido a que la solubilidad del ligando aumenta en medios muy ácidos, lo que provocaría la lixiviación parcial del ligando a pH inferiores a 2. También se observa a valores de pH superiores a 3 una menor sensibilidad en la recta de calibrado.

La variación del potencial en función del pH del medio para el electrodo de pasta de carbón modificado con DHPE se representa en la figura 4.21. En este caso se observa un comportamiento diferente al del sensor para cromo (VI). A valores de pH del medio superiores a 4 se observa, en ausencia y en presencia de cromo (III)  $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , una variación lineal del potencial con el pH con pendientes en torno a  $-30 \text{ mV pH}^{-1}$ . A valores de pH inferiores a 4, la variación del potencial con el pH es muy pequeña pudiéndose considerar casi independiente del pH a valores de éste comprendidos entre 2 y 3.5.



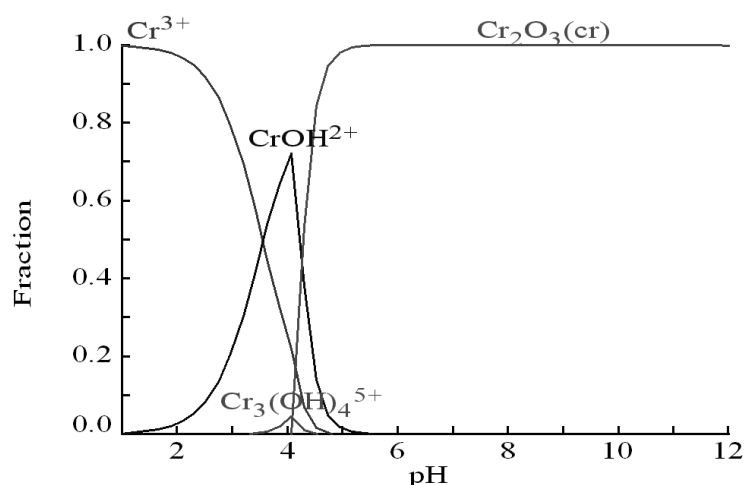
**Figura 4.21.** Respuesta potenciométrica del sensor de pasta de carbón sin modificar (●), modificado con un 20 % de DHPE en ausencia (▲) y en presencia de Cr (III)  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (x) en función del pH de la disolución. Electrolito soporte:  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ .

Para caracterizar la causa del cambio del potencial a valores de pH superiores a 4, se estudió la distribución de especies del cromo trivalente en función del pH. Como puede verse en la figura 4.22, el cromo (III) puede estar presente en forma de



diversas especies en disolución. A pH menor de 3.3 la especie predominante en disolución es el acuocomplejo del ión  $\text{Cr}^{3+}$ , mientras que a pH superiores la especie predominante es el catión básico  $\text{CrOH}^{2+}$ . A una concentración de metal  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  el hidróxido empieza a precipitar a pH 3.6 observándose turbidez en la disolución. El mismo cambio de potencial con el pH, a pH mayor de 4, se observa también en ausencia del analito. Aunque el causante de esta variación podría ser la hidrólisis de cromo (III), al producirse la misma variación en ausencia de éste, creemos que la razón principal del comportamiento del sensor debe ser la adsorción del ión hidrógeno por la matriz del electrodo.

Debido a estas reacciones parásitas del cromo (III) con el ión hidroxilo y a los mejores intervalos lineales encontrados en la zona de pH ácido se elige un valor de pH de 3.0 para llevar a cabo las medidas subsiguientes. El ajuste del pH se realiza mediante la adición de una cantidad adecuada de ácido nítrico.

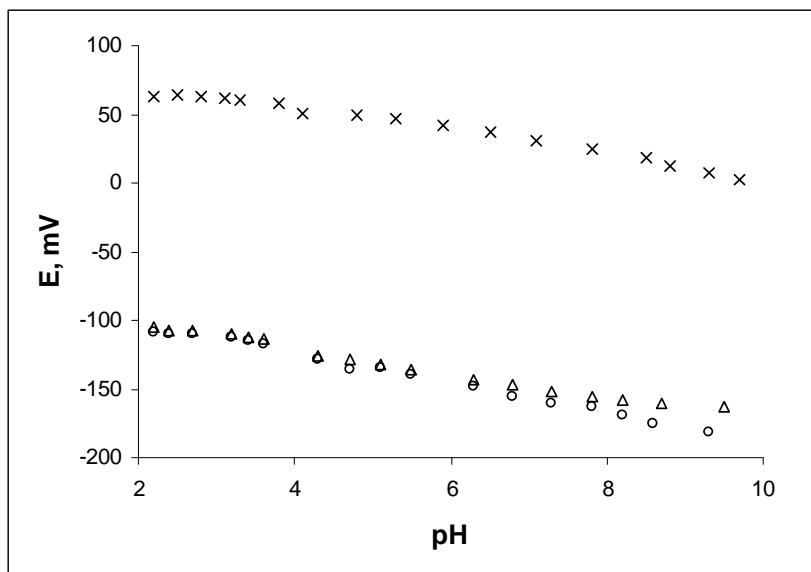


**Figura 4.22.** Representación de la fracción molar de las especies de Cr (III) en función del pH. Concentración de Cr (III)  $1.00 \times 10^{-3} \text{ M}$ . Calculadas mediante software MEDUSA.

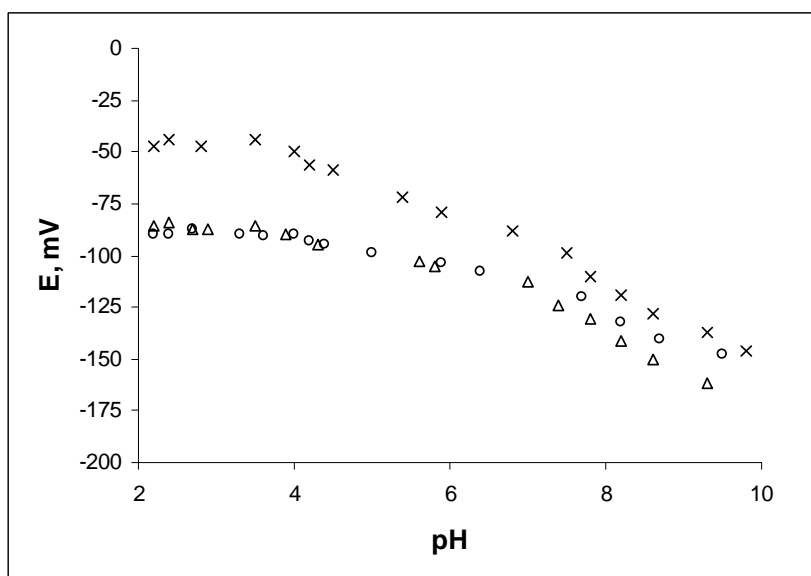
#### 4.1.4.2 SENSORES DE MATERIAL POLIMÉRICO.

La evolución del potencial en función del pH para los sensores construidos con EPOFIX<sup>®</sup>, en distintas condiciones de disolución, se exponen en la figura 4.23 para el sensor modificado con DPCI y en la figura 4.24 para el modificado con DHPE.

#### 4.1. Respuesta potenciométrica en estático



**Figura 4.23.** Respuesta potenciométrica frente al pH de: Sensor de EPOFIX y grafito (○); Sensor de EPOFIX, grafito y DPCI en ausencia de  $\text{Cr(VI)}$  (△); Sensor de EPOFIX, grafito y DPCI en presencia de  $\text{Cr(VI)}$   $1.00 \times 10^{-4}$  M (×).



**Figura 4.24.** Respuesta potenciométrica frente al pH de: Sensor de EPOFIX y grafito (○); Sensor de EPOFIX, grafito y DHPE en ausencia  $\text{Cr(III)}$  (△); Sensor de EPOFIX, grafito y DHPE en presencia de  $\text{Cr(III)}$   $1.00 \times 10^{-3}$  M (×).

Puede observarse en las figuras que la influencia de la variación del pH en la respuesta potenciométrica de todos los sensores de membrana polimérica es diferente a la observada para los sensores de pasta de carbón.

El sensor de material polimérico modificado con DPCI (MP-DPCI, en adelante) presenta variaciones de potencial en función del pH con una pendiente de  $-9 \text{ mV pH}^{-1}$  tanto en presencia como en ausencia del analito para pH superiores a 3.5. Para valores de pH comprendidos entre 2 y 3.5 prácticamente no se observan variaciones en el valor del potencial. El sensor que no contiene modificador en su composición responde de manera muy similar que el modificado a las variaciones de pH de la disolución de medida. Comparado con el sensor similar de pasta de carbón (PC-DPCI, en adelante) éste último presenta una mayor influencia con el pH del medio.

Para los sensores de material polimérico modificado con DHPE (MP-DHPE, en adelante) se observa un comportamiento en función del pH similar al sensor de pasta de carbón (PC-DHPE, en adelante), pero con una menor sensibilidad a los iones hidrógeno. Así, a valores de pH menores de 4, el potencial permanece prácticamente constante. El comportamiento es similar en ausencia y en presencia de cromo (III) en la disolución de medida. A valores de pH superiores a 4, se observa una variación de potencial de  $-13 \text{ mV pH}^{-1}$  para el sensor MP-DHPE en presencia de cromo (III)  $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  y de  $-9 \text{ mV pH}^{-1}$  para el sensor polimérico sin modificar y modificado con DHPE pero en ausencia de analito. Por contra el electrodo PC-DHPE presenta una variación de potencial mayor, en torno a los  $-30 \text{ mV pH}^{-1}$ .

En función de los resultados obtenidos el valor de pH considerado más adecuado para trabajar con estos electrodos ha sido de 3.0 tanto para el análisis de cromo hexavalente como trivalente, el mismo que el elegido para los sensores de pasta de carbón. La menor influencia que tiene el pH sobre la respuesta de los sensores diseñados con material polimérico (figuras 4.23 y 4.24) frente a los de pasta de carbón (figuras 4.19 y 4.21) se traduce en una mayor robustez de las membranas de base epoxi.

#### 4.1.5. TIEMPO DE RESPUESTA.

Una característica importante de los sensores potenciométricos es su tiempo de repuesta. Se denomina como tiempo de respuesta,  $t_R$ , al periodo necesario para alcanzar un nuevo potencial de equilibrio,  $E_{eq}$ , partiendo de un potencial inicial  $E_i$ , después de que se produzca una perturbación en la disolución, como por ejemplo, un cambio en el pH, un aumento en la concentración del ión del cual se estudia la respuesta del electrodo, o la adición de un complejante [Buffle, 1988]. En la práctica, el potencial tiende asintóticamente hacia el potencial de equilibrio por lo que  $t_R$  se define sólo operacionalmente. En general, es importante que un sensor tenga un tiempo de respuesta corto ya que permitirá medir variaciones rápidas en la concentración del analito a determinar.

Para establecer el tiempo de respuesta de los sensores potenciométricos se han empleado distintos criterios. Inicialmente, siguiendo la definición de tiempo de respuesta mencionada y al amparo de recomendaciones de la IUPAC publicadas en 1976 [IUPAC, 1976], se consideraba como tiempo de respuesta el tiempo necesario para alcanzar el 90% del potencial de equilibrio del electrodo tras un aumento de la concentración del analito en el seno de la disolución de medida. Se denominaba a ese tiempo  $t_{90}$ , *tiempo práctico de respuesta* [Guilbaut, 1979]. El principal inconveniente de esta metodología es que necesita establecer cual es el potencial de equilibrio.

Actualmente se emplea otro método de determinación del tiempo de respuesta a partir de las recomendaciones de la IUPAC sobre nomenclatura para electrodos selectivos publicadas en 1994 [Buck y Lindner, 1994]. En este método se elimina la palabra *práctico* de su definición volviendo a hablar de *tiempo de respuesta*. El procedimiento consiste en determinar el tiempo que tarda la señal potenciométrica, tras un aumento en la concentración del analito en la disolución de medida, en alcanzar un valor de potencial cuya variación con respecto al tiempo ( $\Delta E/\Delta t$ ) sea inferior a un valor prefijado. Este valor fijo estará delimitado por las condiciones de medida de los potenciales y la precisión requerida. Por tanto, la pendiente de la señal en función del tiempo será inicialmente cero, aumentará hasta un valor máximo cuando se incrementa la concentración del analito e irá tendiendo progresivamente de nuevo a cero según se acerque al potencial de equilibrio.

A la hora de aplicar esta metodología para el cálculo del tiempo de respuesta se han empleado valores límite de la variación de potencial con el tiempo desde 1 mV

$\text{min}^{-1}$  hasta  $0.2 \text{ mV min}^{-1}$  [Macca, 2004]. Para establecer el tiempo de respuesta de los sensores desarrollados y de acuerdo con la precisión que presentan se ha elegido una variación límite de  $0.5 \text{ mV min}^{-1}$ . El procedimiento experimental consistió en registrar la variación del potencial en función del tiempo para un aumento en la concentración del analito tomando los datos de potencial cada medio segundo.

Para realizar la medida se preparan disoluciones individuales de cromo (VI) y cromo (III), en concentración  $3.20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , usando como electrolito  $\text{NaNO}_3$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  a un valor de pH de 3.0 ajustado con ácido nítrico. Se introducen el electrodo de referencia y el electrodo que corresponda al analito presente en la disolución y se realiza la medida del potencial con agitación constante, termostalizando la célula electroquímica de medida a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Una vez estabilizado el potencial, se realiza la adición del volumen adecuado de disolución patrón del analito para aumentar la concentración de la disolución en media unidad logarítmica, iniciando en el momento de la adición el registro del tiempo. Una vez estabilizado nuevamente el potencial, se realiza una nueva adición de la cantidad de patrón del analito necesaria para aumentar su concentración en la disolución de medida otra media unidad logarítmica. Se procede así sucesivamente hasta alcanzar una concentración  $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  del ión para el que se está realizando el ensayo. A continuación, se calcula la derivada de la variación del potencial en función del tiempo y se obtiene la representación de  $\Delta E/\Delta t$  frente al tiempo. Se determina entonces el tiempo de respuesta como el tiempo que tarda el electrodo, desde que añadimos el patrón concentrado de analito, en alcanzar un valor de  $\Delta E/\Delta t$  menor o igual a  $0.5 \text{ mV min}^{-1}$ . En la tabla 4.6 se refleja el valor promedio de los tiempos de respuesta obtenidos para cada uno de los incrementos de concentración realizados.

**Tabla 4.6.** Tiempos de respuesta obtenidos para los sensores de Cr (VI) y Cr (III) construidos con matrices de pasta de carbón (PC) y material polimérico (MP).

Matriz de la membrana	Modificador	Tiempo de respuesta, s
PASTA DE CARBÓN (PC)	DPCI	$21 \pm 2$
	DHPE	$7 \pm 1$
MATERIAL POLIMÉRICO (MP)	DPCI	$16 \pm 2$
	DHPE	$9 \pm 2$

Como se puede observar en la tabla 4.6, se obtienen tiempos de respuesta más cortos para los sensores diseñados para el cromo (III) que para los de cromo (VI). Los dos tiempos de respuesta obtenidos para cromo (III) son similares e independientes de la matriz con la que esté construido el sensor. En cambio, en el caso de los sensores sensibles a cromo hexavalente se observa que el electrodo construido con el material polimérico presenta una respuesta un poco más rápida.

La diferente cinética del mecanismo de respuesta de los sensores podría ser una explicación a estos resultados. En cualquier caso, es muy importante destacar que todos los sensores desarrollados se caracterizan por presentar tiempos de respuesta cortos, muy por debajo del minuto, lo que nos permitirá medir variaciones muy rápidas en la concentración de los analitos.

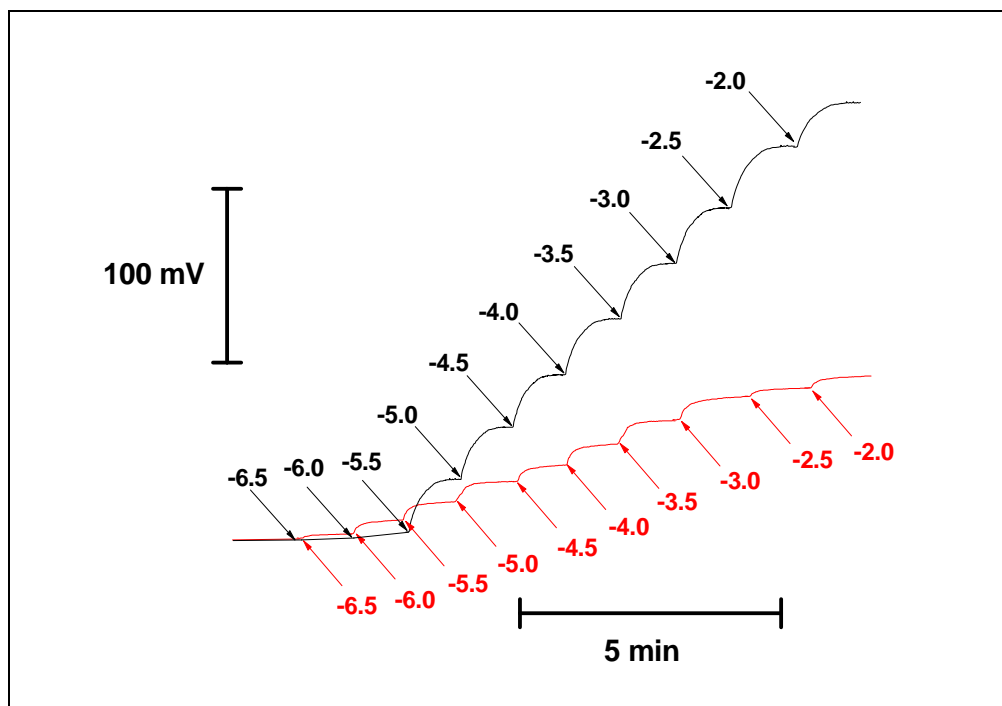
#### 4.1.6. CARACTERÍSTICAS DE LA RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES. LÍMITES DE DETECCIÓN.

La respuesta potenciométrica de los electrodos en función de la concentración de los iones a los que son selectivos se ha estudiado en las condiciones óptimas de pH y en presencia de  $\text{NaNO}_3$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  como electrolito soporte. El pH de la disolución de electrolito se ajusta al valor óptimo de medida ( $\text{pH} = 3$ ) con ácido nítrico, en vez de usar una solución reguladora para no modificar los iones del electrolito.

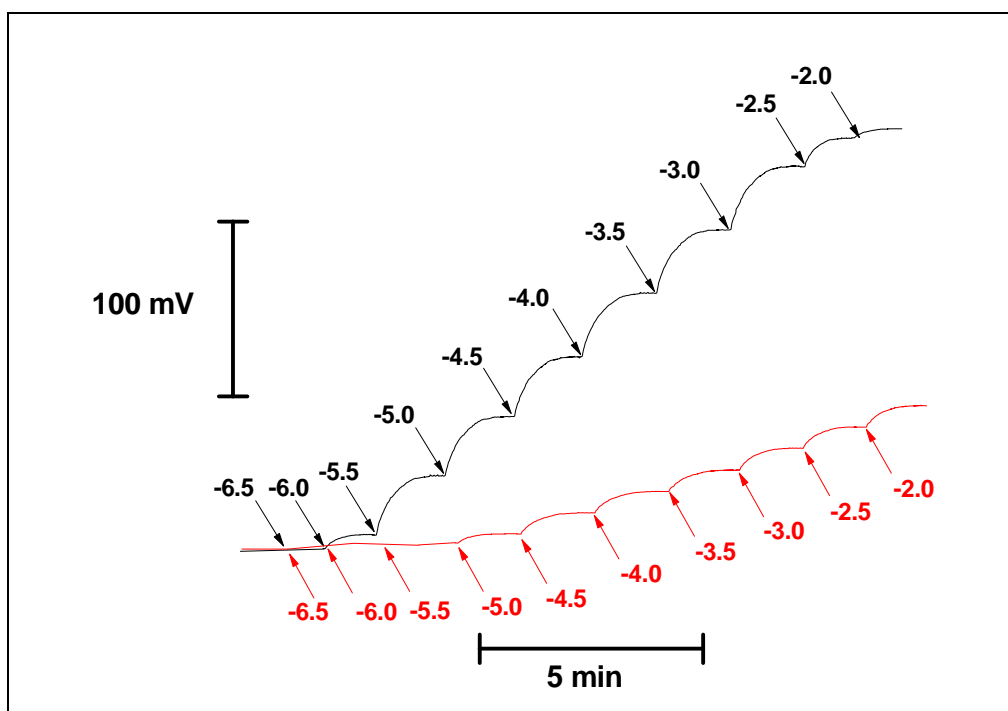
Las rectas de calibrado se realizaron mediante el Método de Inyección, descrito en el apartado 3.3.1.1. del Desarrollo Experimental de esta memoria. La gráfica que se obtiene con este procedimiento es una secuencia de curvas de respuesta de potencial de tipo exponencial, que se producen al incrementarse la concentración de analito en la célula de medida, tal como se refleja en las figuras 4.25 y 4.26.

En la figura 4.25 se muestra la evolución de la señal en función del tiempo para los sensores de PC-DPCI y PC-DHPE al adicionar cromo (VI) y cromo (III), respectivamente. Se han superpuesto las gráficas de forma que puedan apreciarse las diferencias existentes entre ambas respuestas a los analitos. Cada flecha indica el momento de la adición de disolución concentrada de patrón. En la figura se observa claramente como el electrodo sensible a cromo (III) presenta una respuesta más rápida al cambio en la concentración de analito que el electrodo sensible a cromo (VI). También se observa que el sensor de cromo (III) responde a concentraciones más bajas de analito que el de cromo (VI).

Al cambiar la matriz de pasta de carbón por la de material polimérico se aprecia un cambio significativo en las respuestas potenciométricas (figura 4.26). En este caso se observa claramente que el sensor de DHPE empieza a responder a concentraciones más altas de analito que el correspondiente de DPCI para cromo (VI). Este resultado dará lugar a límites de detección más altos para cromo (III).



**Figura 4.25.** Evolución de las curvas de respuesta potenciométrica de: (—) Sensor de **PC-DPCI** para cromo (VI) y (—) sensor de **PC-DHPE** para cromo (III). Cada flecha señala una adición del patrón de analito correspondiente para tener una concentración del mismo en la disolución de medida cuyo logaritmo se destaca junto a la flecha. Concentración inicial de ambos analitos de  $1.00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$



**Figura 4.26.** Evolución de las curvas de respuesta potenciométrica de: (—) Sensor de **MP-DPCI** para cromo (VI) y (—) sensor de **MP-DHPE** para cromo (III). Cada flecha señala una adición del patrón de analito correspondiente para tener una concentración del mismo en la disolución de medida cuyo logaritmo se destaca junto a la flecha. Concentración inicial de ambos analitos de  $1.00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$



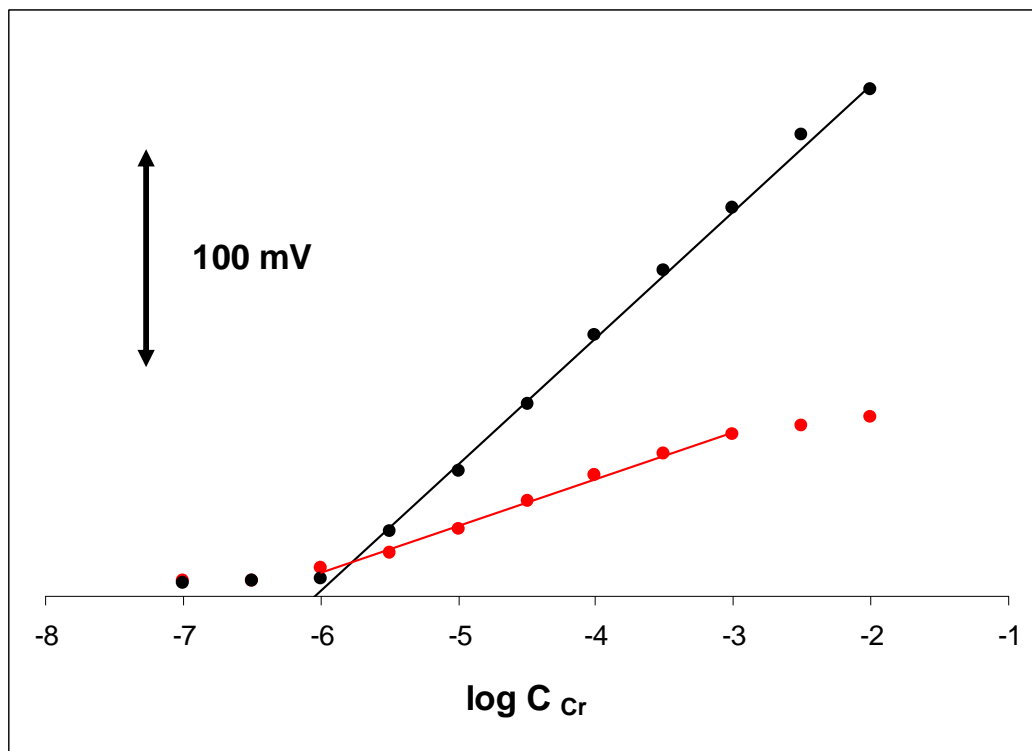
A continuación se construyeron las rectas de calibrado del potencial de equilibrio en función del logaritmo de la concentración de analito. Las gráficas obtenidas para los sensores de pasta de carbón y de material polimérico pueden verse en las figuras 4.27 y 4.28, respectivamente. Una vez construidas las rectas de calibrado, se establecieron los parámetros analíticos que caracterizan la respuesta al analito de los diferentes sensores potenciométricos desarrollados, entre los que se encuentra la sensibilidad, el intervalo de respuesta lineal y el límite de detección. Los datos de dichos parámetros se reflejan en la tabla 4.7.

En el caso de los sensores de pasta de carbón modificada se puede comprobar que la sensibilidad obtenida con el sensor de PC-DPCI para cromo (VI) es mayor que para el de PC-DHPE: 56.2 mV dec<sup>-1</sup> frente a 20.5 mV dec<sup>-1</sup> (figura 4.27). También se observa en la figura que el sensor modificado con DHPE para cromo (III) pierde su linealidad a concentraciones superiores a 1.00x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, mientras que para el sensor PC-DPCI es lineal hasta una concentración 1.00x10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de analito, lo que da lugar a un mayor intervalo de respuesta lineal (tabla 4.7).

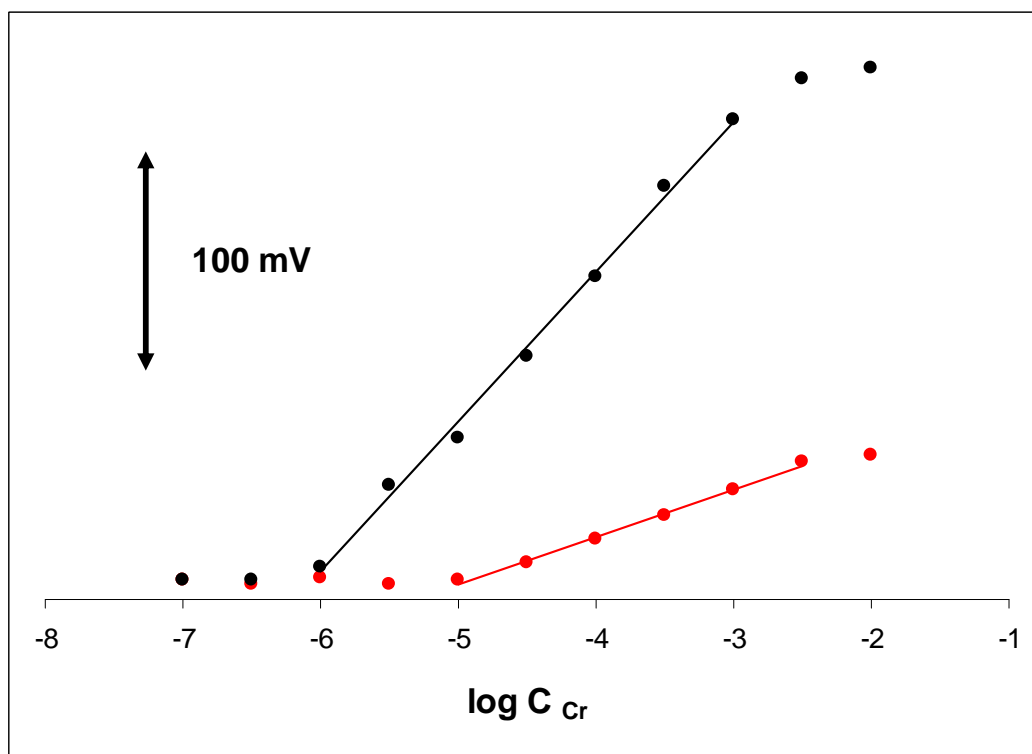
Para los sensores de material polimérico (figura 4.28) la sensibilidad de la respuesta es similar a los valores encontrados con los sensores de pasta de carbón: 59.7 mV dec<sup>-1</sup> y 18.8 mV dec<sup>-1</sup> para los sensores MP-DPCI y MP-DHPE, respectivamente. Cabe destacar que los intervalos de respuesta lineal para ambos sensores se reducen al cambiar la matriz de la membrana a la basada en EPOFIX<sup>®</sup>. En el caso del sensor MP-DPCI esa reducción se produce a altas concentraciones de cromo (VI) mientras que para el sensor MP-DHPE se pierde un orden de magnitud a bajas concentraciones de cromo (III), (tabla 4.7).

**Tabla 4.7.** Características de las rectas de calibrado y límites de detección.

	Electrodo	Ión primario	Intervalo de respuesta lineal, log C <sub>Cr</sub> , mol L <sup>-1</sup>	Pendiente (mV dec <sup>-1</sup> )	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>
PASTA DE CARBÓN	DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -2.00	56.2	9.14x10 <sup>-7</sup>
	DHPE	Cr(III)	-6.00 a -3.00	20.5	6.92x10 <sup>-7</sup>
MATERIAL POLIMÉRICO	DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -3.00	59.7	6.17x10 <sup>-7</sup>
	DHPE	Cr(III)	-5.00 a -2.50	18.8	1.25x10 <sup>-5</sup>



**Figura 4.27.** Representación del potencial alcanzado para cada una de las concentraciones de analito en la disolución de medida. (•) Sensor **PC-DPCI** para el análisis de cromo (VI) y (•) Sensor **PC-DHPE** para el análisis de cromo (III).



**Figura 4.28.** Representación del potencial alcanzado para cada una de las concentraciones de analito en la disolución de medida. (•) Sensor **MP-DPCI** para el análisis de cromo (VI) y (•) Sensor **MP-DHPE** para el análisis de cromo (III).

Una de las propiedades analíticas más importantes de los sensores potenciométricos es su límite de detección. Este parámetro se define por la IUPAC para los electrodos selectivos de iones como la concentración del analito en el punto de intersección de la parte lineal extrapolada de la curva de calibrado con la parte de respuesta plana [Koryta y Stulik, 1983.; Hunt y Wilson, 1986].

En la tabla 4.7 se observa que para los sensores selectivos a cromo (VI) se obtiene un límite de detección algo más bajo con la membrana de material polimérico que con la basada en pasta de carbón. Para los sensores modificados con DHPE se observa un resultado inverso, con un límite de detección para la membrana polimérica más de un orden de magnitud superior que para la de pasta de carbón. La pérdida de sensibilidad observada para el sensor modificado con DHPE en base polimérica puede deberse a una reacción química del ligando con los reactivos que forman la membrana, evitando parcialmente la reacción del DHPE con el ión cromo (III) o bien a una menor transferencia de carga entre la membrana y el contacto óhmico debido a las características del proceso electródico.

En las tablas 4.8 y 4.9 se comparan las propiedades analíticas de los sensores descritos en esta memoria con las obtenidas para otros sensores sensibles a cromo (VI) y cromo (III) que han aparecido en la bibliografía hasta la fecha.

Para los sensores selectivos al cromo (VI) desarrollados en este trabajo se observa que el límite de detección alcanzado es más bajo que el obtenido con casi todos los electrodos de la tabla 4.8. El intervalo de respuesta lineal tiene los mismos órdenes de magnitud que la mayoría y el tiempo de respuesta es de los más bajos, en especial el que corresponde al material polimérico. Si la comparación la reducimos a los sensores de membrana sólida, todos los parámetros analíticos mejoran los descritos hasta la fecha, especialmente los que corresponden al sensor de material polimérico.

Los sensores desarrollados para el cromo (III) (tabla 4.9) muestran intervalos de respuesta lineal y límites de detección similares a los del resto de sensores, siendo mejores los resultados obtenidos para el de pasta de carbón. Además, los tiempos de respuesta que presentan ambos sensores son los más cortos, característica muy importante para su aplicación en el análisis en continuo.

**Tabla 4.8.** Intervalo de respuesta lineal, límite de detección y tiempo de respuesta para diferentes sensores de cromo (VI).

Artículo	Tipo membrana	Molécula discriminadora	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>	Intervalo de respuesta, mol L <sup>-1</sup>	Tiempo respuesta, s
[Jain y col., 1995]	Membrana poliestireno	Sulfato de plomo	-	2x10 <sup>-5</sup> a 10 <sup>-1</sup>	20
[Hassan y col., 1996]	Membrana PVC	Bicromato de níquel tris (1,10-butanofenantrolina)	8.6x10 <sup>-6</sup>	8.6x10 <sup>-6</sup> a 2.0x10 <sup>-2</sup>	20
[Rudo y col., 1998]	Membrana de PVC	Complejo difenilcarbazona-Cr(III)	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup> a 10 <sup>-1</sup>	4
[Alfaya y col., 1999]	Xerogel (Sol-gel)	SiO <sub>2</sub> (ZrO <sub>2</sub> )	4.6x10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5</sup> a 10 <sup>-3</sup>	60
[Hassan y col., 2005-B]	Membrana PVC	Rodamina B	10 <sup>-6</sup>	5x10 <sup>-6</sup> a 10 <sup>-1</sup>	30 a 40 para Cr < 10 <sup>-3</sup> M
[Choi y col., 2005]	Membrana PVC	N,N,N,N-tetrakis(3-aminopropil)-1,4-butanodiamina	4.3x10 <sup>-6</sup>	2.2x10 <sup>-6</sup> a 10 <sup>-1</sup>	1
[Singh L.P. y col., 2005]	Membrana PVC	Éter corona C-tiofenocalix [4]resorciareno	5.8x10 <sup>-6</sup>	5x10 <sup>-6</sup> a 10 <sup>-1</sup>	13
[Ardakani y col., 2005]	Sólida (cable recubierto)	Complejo de bis(acetilacetato) de Cd(II) con dicromato	10 <sup>-6</sup>	2.5x10 <sup>-6</sup> a 10 <sup>-1</sup>	<25
[Elif Kormali Erturun y col., 2007]	Membrana PVC	5,11,17,23-tetra-tert-butyl- 27,25-bis-(isoniazidilcarbonilmetoxi)-26,28-dihidroxicalix[4]areno	4.3x10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup> a 10 <sup>-1</sup>	15 a 20
[Muxel y col., 2007]	Grafito recubierto de membrana	Polímero de cloruro de silsesquioxano 3-n-propilpiridina	2.8x10 <sup>-6</sup>	3.1x10 <sup>-6</sup> a 1.8x10 <sup>-2</sup>	15
[Fiol y col., 2007]	Material polimérico	Materia biológica vegetal (corteza de Yohimbe y raballo de uva)	2.2x10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5</sup> x10 <sup>-2</sup>	120
	Pasta de carbón		9.14x10 <sup>-7</sup>	1.0x10 <sup>-6</sup> a 1.0x10 <sup>-3</sup>	21
Este trabajo		DPCI			
	Material Polimérico		6.17x10 <sup>-7</sup>	1.0x10 <sup>-6</sup> a 1.0x10 <sup>-2</sup>	16

**Tabla 4.9.** Intervalo de respuesta lineal, límite de detección y tiempo de respuesta para diferentes sensores de cromo (III).

Artículo	Tipo membrana	Molécula discriminadora	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>	Intervalo de respuesta, mol L <sup>-1</sup>	Tiempo respuesta, s
[Ganjali y col., 2006]	Membrana de PVC	Base de Schiff	7x10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-6</sup> – 0.1	<12
[Singh A.K. y col., 2007]	Membrana de PVC	B. Schiff L <sub>1</sub>	5. 2x10 <sup>-8</sup>	8.9x10 <sup>-8</sup> – 0.1	10
		B. Schiff L <sub>2</sub>	6.3x10 <sup>-7</sup>	8.3x10 <sup>-7</sup> – 0.1	22
[Ganjali y col., 2003]	Membrana de PVC	Base de Schiff	1.2x10 <sup>-6</sup>	3x10 <sup>-6</sup> – 0.1	20
[Gholivand y col., 2004]	Membrana de PVC	Ácido Oxálico	6.3x10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup> – 10 <sup>-2</sup>	<20
[Sharma y Goel, 2005]	Membrana de PVC	Aurin TCA (resina)	-	7x10 <sup>-6</sup> – 0.1	10
[Gupta y col., 2006]	Membrana de PVC	Éter corona	-	4x10 <sup>-6</sup> – 0.1	15
[Shamsipur y col., 2005-B]	Membrana de PVC	B. Schiff PME	10 <sup>-6</sup>	1.5x10 <sup>-6</sup> – 8x10 <sup>-3</sup>	<10
		B. Schiff CGCE	2x10 <sup>-7</sup>	4x10 <sup>-7</sup> – 3x10 <sup>-3</sup>	<10
[Akl y col., 2006]	Membrana de PVC	Éter corona (varios)	10 <sup>-7</sup>	1x10 <sup>-7</sup> – 0.1	-
[Zamani y col., 2006]	Membrana de PVC	Triazona (AHMTO)	5.8x10 <sup>-7</sup>	1x10 <sup>-6</sup> – 0.1	<10
[Singh A.K. y col., 2004]	Membrana de poliestireno	Macro ciclo (tetrazona)	-	1.6x10 <sup>-6</sup> – 0.1	20
[Sil y col., 2004]	Sólida (cable recubierto)	Macro ciclo (tetra y triazonas)	6x10 <sup>-7</sup>	1.0x10 <sup>-7</sup> – 0.1	20
[Ganjali y col., 2003-B]	Membrana de PVC	Macro ciclo (tetrazona)	7x10 <sup>-7</sup>	1.0x10 <sup>-6</sup> – 0.1	15
[Abbaspour e Izadyar, 2001]	Membrana de PVC	Azobenceno	8x10 <sup>-7</sup>	1.66x10 <sup>-6</sup> a – 10 <sup>-2</sup>	10
[Zhou y col., 2009]	Pasta de carbón	Gel de sílice activado con un silano	8.0x10 <sup>-9</sup>	1.0x10 <sup>-8</sup> – 1.0x10 <sup>-3</sup>	55
[Li y col., 2009]	Membrana de poli(fucsina básica)	Ácido dietilentetraminopentacético	3.6x10 <sup>-7</sup>	1.0x10 <sup>-6</sup> - 1.0x10 <sup>-4</sup>	10
Éste trabajo	Pasta de carbón	DHPE	6.92x10 <sup>-7</sup>	1.0x10 <sup>-6</sup> - 1.0x10 <sup>-3</sup>	7
	Material polimérico		1.25x10 <sup>-5</sup>	1.0x10 <sup>-5</sup> - 1.0x10 <sup>-2</sup>	9

### 4.1.7 ESTABILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES.

Una vez estudiadas la sensibilidad y el límite de detección de los sensores, se evaluó la precisión de las medidas y la estabilidad de los sensores con el tiempo. Con el fin de evaluar estos parámetros, se llevaron a cabo estudios de la reproducibilidad de la medida de potenciales en el mismo día y en días sucesivos.

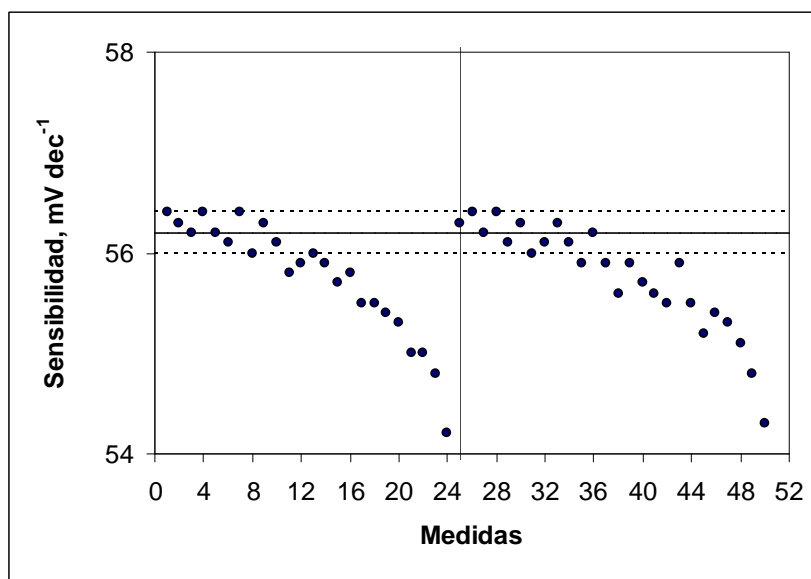
#### 4.1.7.1 SENSORES DE PASTA DE CARBÓN.

Los sensores potenciométricos basados en pasta de carbón modificada muestran una buena precisión en condiciones de repetitividad, llevando a cabo la medida repetitiva de disoluciones de concentración conocida de los metales en las mismas condiciones experimentales. Las variaciones en el potencial medido de patrones que abarcan el intervalo de respuesta potenciométrica son de  $\pm 1$  mV.

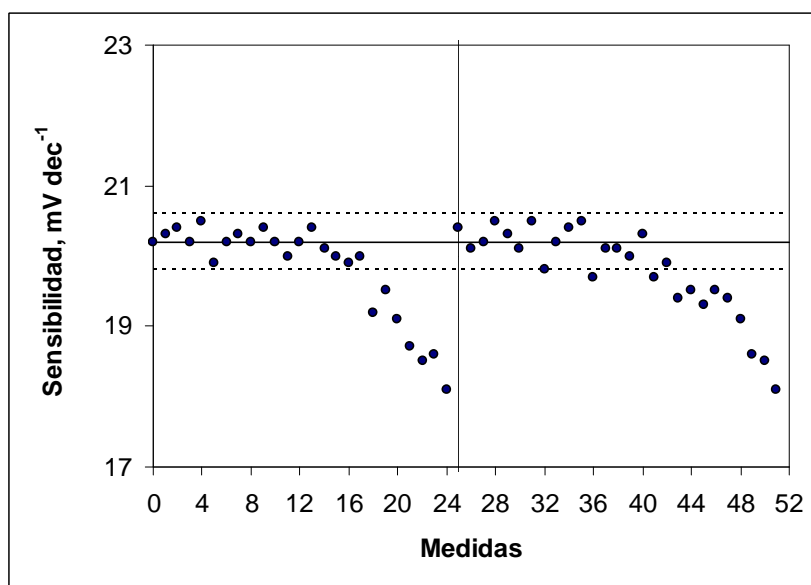
Para comprobar la imprecisión en condiciones de reproducibilidad, y obtener una medida de la estabilidad de los sensores, se evalúa la variación de la sensibilidad obtenida con el mismo sensor con el tiempo mediante la realización de calibrados sucesivos. Se representaron los gráficos de control de los valores de las pendientes de las rectas de calibrado, para un nivel de confianza del 90%, para aproximadamente 50 calibrados a lo largo de 9 meses, tanto para el sensor PC-DPCI sensible a cromo (VI) (figura 4.29) como para el sensor PC-DHPE para cromo (III) (figura 4.30). En los gráficos, la línea continua representa el valor medio de la pendiente obtenida para 14 calibrados sucesivos mientras que las líneas discontinuas representan los intervalos de confianza del 90 %, que se calculan de acuerdo a la ecuación 4.4:

$$\text{Intervalo de confianza: } \bar{x} \pm \frac{t\sigma}{\sqrt{n}} \quad (4.4)$$

Donde  $\bar{x}$  es el valor de la media,  $t$  el valor de la  $t$  de Student,  $\sigma$  es la desviación estándar y  $n$  el número de datos. Los datos que permanecen dentro del intervalo de confianza se consideran estadísticamente iguales.



**Figura 4.29.** Estabilidad de la respuesta potenciométrica del sensor PC-DPCI al Cr(VI).



**Figura 4.30.** Estabilidad de la respuesta potenciométrica del sensor PC-DHPE al Cr(III).

Los gráficos muestran que la medida permanece dentro de los intervalos de confianza a lo largo de 12 medidas sucesivas y que después la pendiente se reduce excesivamente. Después de realizar 24 calibrados con la misma superficie esta se renovó y activó. Una vez que se renueva y se activa nuevamente la superficie del electrodo, la respuesta vuelve a ser estable durante otras 12 medidas sucesivas.

Para estudiar si el proceso de renovación de la superficie del electrodo podría conllevar una pérdida de precisión se compararon las sensibilidades obtenidas con los sensores cada vez que se cambia su superficie y después de llevar a cabo su activación. Se obtienen así variaciones inferiores a 1 mV en la pendiente de la recta de calibrado, tanto para el sensor de cromo hexavalente como trivalente, después de renovar hasta cinco veces la superficie. La imprecisión es similar a la obtenida para una única membrana por lo que se deduce que la precisión de la medida no se modifica al renovar la superficie del sensor.

Los resultados demuestran por una parte que no es necesario la renovación del sensor para cada tanda de medidas que realicemos y por otra confirman que, si se produce una contaminación del sensor debido a interferentes presentes en la muestra, una vez renovada la superficie se obtiene la misma respuesta que obteníamos inicialmente.

Cabe destacar que, si bien existe una muy buena precisión en la pendiente de la recta de calibrado, incluso cuando se renueva la superficie, también se ha observado una peor reproducibilidad de la ordenada en el origen. Cada vez que renovamos la superficie de los sensores los potenciales difieren en torno a valores de  $\pm 10$  mV con respecto a la superficie anterior. Sin embargo, a lo largo del trabajo con dicha superficie, dicha ordenada en el origen no se modifica. Si no deseamos llevar a cabo un calibrado completo cada vez que se renueva la superficie este inconveniente se resuelve fácilmente llevando a cabo las medidas del potencial de manera diferencial. Esta medida diferencial se realiza restando al valor de potencial obtenido para la disolución de analito el valor del potencial dado por una disolución de electrolito soporte sin analito o con una concentración de este inferior al límite de detección. Representando el incremento de potencial frente al logaritmo de la concentración de analito conseguimos que la reproducibilidad de la ordenada en el origen mejore obteniendo variaciones de  $\pm 1$  mV, lo que permite realizar medidas de concentración de analito sin necesidad de llevar a cabo una calibración para cada conjunto de medidas.



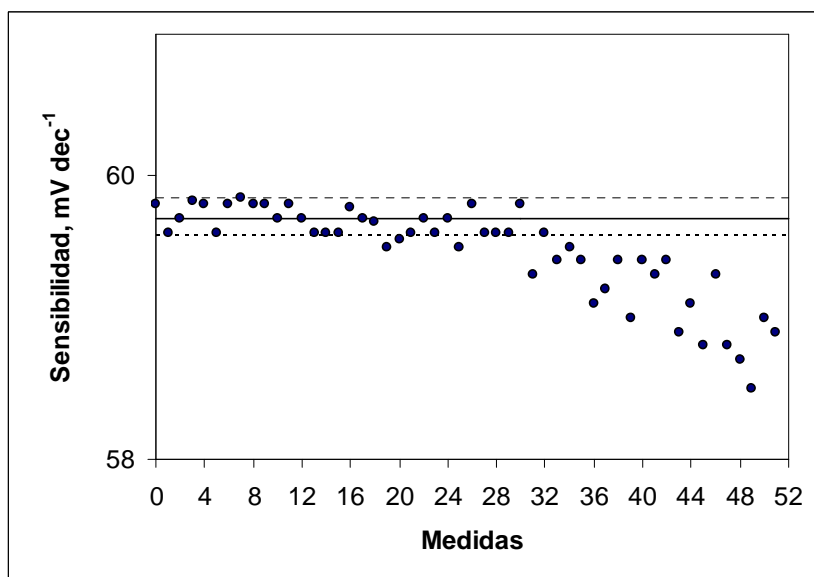
#### 4.1.7.2 SENSORES DE MATERIAL POLIMÉRICO.

Para los sensores de base polimérica los resultados de precisión en condiciones de repetitividad reflejan unas imprecisiones en la medida de potenciales de patrones de cromo (VI) y cromo (III) inferiores a  $\pm 1$  mV. Para hacer el estudio de precisión en condiciones de reproducibilidad se evalúa la variación de la pendiente de diversos calibrados realizados a lo largo de varios días con el mismo sensor.

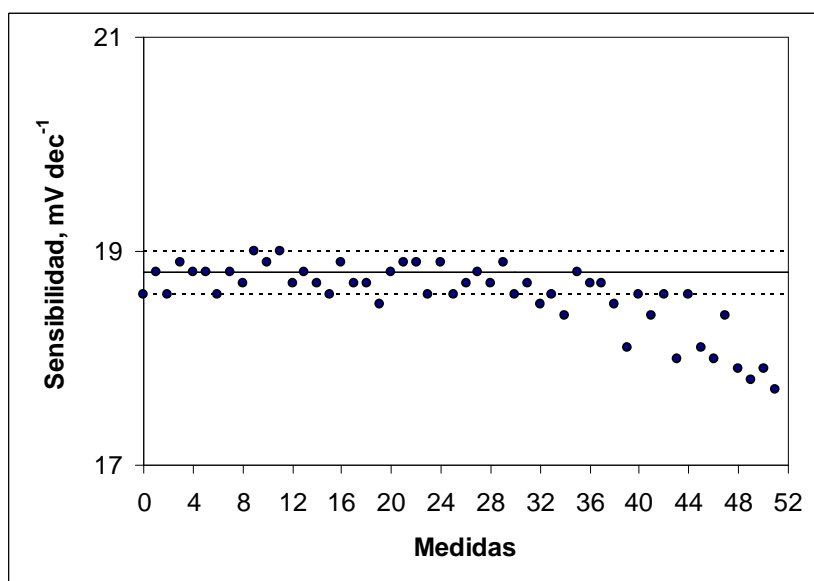
Las figuras 4.31 y 4.32 reflejan los gráficos de control correspondientes a los sensores de cromo (VI) y cromo (III), respectivamente. En los gráficos, como en el caso de los sensores de pasta de carbón, la línea continua representa el valor medio de la pendiente obtenida para 30 calibrados sucesivos mientras que las líneas discontinuas representan los intervalos de confianza del 90 %, teniendo en cuenta la imprecisión obtenida.

Puede verse en las figuras que la reproducibilidad de la sensibilidad obtenida con ambos sensores es muy similar, apenas existiendo diferencias tanto en la precisión como en el tiempo de vida del electrodo que puede calibrarse unas 30 veces sin pérdida significativa de sensibilidad. También queda reflejado en estas representaciones, tanto para el caso del sensor para cromo hexavalente como trivalente, la mejora en la estabilidad de la respuesta obtenida para estos sensores frente a los sensores de pasta de carbón, pudiéndose utilizar el doble de veces antes de rechazarlos. Estos resultados vuelven a confirmar que este tipo de matrices poliméricas contribuyen a mejorar la robustez del sensor.

Al renovar la superficie sensora mediante el pulido con pasta de diamante y su posterior activación se recuperan los valores de pendiente iniciales con una imprecisión inferior, de nuevo, a  $\pm 1$  mV, pero con diferencias en torno a los 10 mV en el potencial de medida. Por este motivo las medidas se realizan de modo diferencial, al igual que en el caso de los sensores de pasta de carbón modificada.



**Figura 4.31.** Estabilidad de la respuesta potenciométrica del sensor MP-DPCI al Cr(VI).



**Figura 4.32.** Estabilidad de la respuesta potenciométrica del sensor MP-DHPE al Cr(III).

#### 4.1.8 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES AL IÓN PRINCIPAL.

Uno de los parámetros más importantes a considerar en un sensor potenciométrico es su selectividad hacia el ión para el que se diseña. En general, los sensores no son completamente específicos a un determinado ión, por lo que es necesaria la estimación de su selectividad. El efecto que ejerce la presencia de otros iones en disolución sobre la respuesta de un determinado sensor potenciométrico se evalúa normalmente calculando los coeficientes de selectividad del electrodo para los iones interferentes. El coeficiente de selectividad indica el efecto de un ión extraño  $B$  que interfiere con la respuesta de un sensor a su ión primario  $A$  [Koryta y K. Stulik, 1983; Moody y Thomas, 1971; Buffle, 1988]. En general, la constante de selectividad ( $K_{A,B}$ ) se define según la ecuación de Nicolsky-Eisenman (4.5), como:

$$E = E^{\circ} + S \log \left[ a_A + K_{A,B} (a_B)^{z_A/z_B} \right] \quad (4.5)$$

Donde  $S$  es la pendiente (mV década<sup>-1</sup> de actividad) de la recta de calibrado del sensor potenciométrico,  $a_A$  y  $a_B$  las actividades del ión principal y el ión interferente y  $z_A$  y  $z_B$  son las cargas de los iones  $A$  y  $B$ , respectivamente. Para valores de  $K_{A,B} < 1$ , el electrodo, al menos con respecto a la selectividad, favorece a la especie  $A$ , es decir, es más sensible a la especie  $A$  que a la especie  $B$ . Por contra, valores de  $K_{A,B} > 1$  indican que el electrodo no es adecuado para medir la especie  $A$  en presencia de  $B$  cuando este último está en concentraciones similares a la del ión primario, ya que es más sensible al ión interferente [Moody y Thomas, 1971].

Hay que tener en cuenta que el valor del coeficiente de selectividad depende sensiblemente de las condiciones de operación y cálculo, por lo que sólo es útil como una guía aproximada para la predicción del comportamiento general de un sensor potenciométrico en un medio dado, pero no para hacer correcciones precisas de las medidas de actividad del analito. Los valores del coeficiente de selectividad dependen de la concentración de los dos iones, y de la composición y temperatura de la disolución al igual que del método de cálculo concreto utilizado para su obtención. De este modo, la gravedad de la interferencia dependerá del nivel de actividad relativa del ión primario y el interferente, y de la constante de selectividad [Koryta y K. Stulik, 1983; Moody y Thomas, 1971; Buffle, 1988; Hunt y Wilson, 1986].

De acuerdo a estas premisas, se determinó la influencia que la presencia de especies potencialmente interferentes puede causar sobre la señal, calculando el coeficiente de selectividad correspondiente. Para este cálculo se utilizaron dos métodos diferentes que describimos a continuación.

#### Método de igualación de potenciales (*Matched Potential Method*, MPM)

El método de la igualación de potenciales fue desarrollado por Gadzekpo y Christian [Gadzekpo y Christian, 1984]. La forma de cálculo de los coeficientes de selectividad que describe, es totalmente independiente de la ecuación de Nicolsky-Eisenman. No tiene en cuenta las cargas de los iones ensayados y puede emplearse tanto si la respuesta potenciométrica que presenta al ión principal y al interferente es Nernstiana o no lo es. De hecho, se ha recomendado el empleo de este método cuando la respuesta del sensor no es nernstiana [Umezawa y col., 2000].

Los valores obtenidos mediante el uso de este método son difíciles de relacionar con alguna propiedad física particular, pero sí indican el grado de interferencia que puede esperarse en una muestra. Por estas razones, en los últimos años se ha empezado a emplear el término *factor* en vez de *coeficiente* cuando se emplea este método [Bakker y col., 2000].

El procedimiento experimental consiste en medir primero el potencial de una disolución de electrolito soporte con una actividad de analito  $a_A$ . A continuación adicionamos la cantidad de analito necesaria para tener una actividad final  $a'_A$  y medimos el incremento de potencial producido. Después, a un volumen igual de la disolución inicial que contiene al analito en actividad  $a_A$ , le añadimos cantidades crecientes de ión interferente hasta producir un cambio de potencial igual al encontrado anteriormente. Si la actividad del interferente  $B$  necesaria para producir ese cambio es  $a_B$ , el coeficiente de selectividad puede calcularse a partir de la ecuación (4.6):

$$K_{A,B} = (a'_A - a_A) / a_B \quad (4.6)$$

Para calcular este coeficiente partimos de una concentración de analito de  $a_A = 1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  que después la aumentamos hasta un valor  $a'_A = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol}$

$L^{-1}$ . Para poder abarcar un intervalo amplio de grados de interferencia, las adiciones de interferente parten de una concentración de  $1.00 \times 10^{-7} \text{ mol } L^{-1}$  y se incrementan hasta un valor de  $0.100 \text{ mol } L^{-1}$ . Este método se utilizó para calcular la selectividad de los sensores cuando se realiza la medida en estático, independientemente de la naturaleza del sensor.

#### Método del ión primario constante (*Fixed Primary ion method*, FPM)

Se engloba, al igual que el MPM, dentro de los métodos denominados como *Mezclas Conjuntas (Mixed Solutions Methods, MSM)* [Umezawa y col., 2000]. Este método si asume una dependencia de la respuesta de los sensores de acuerdo con la ecuación de Nicolsky–Eisenman, por lo que los valores que se obtienen mediante su aplicación tienen cierta capacidad de predicción, pero los resultados obtenidos son difíciles de comparar con los obtenidos en otros estudios al ser dependientes de las condiciones de medida.

El procedimiento se basa en la medida del potencial de distintas disoluciones que contengan mezcla de analito e interferente, en las que se mantiene constante la concentración del ión principal y se aumenta la concentración de interferente [Srinivasan y col., 1969]. Mientras no exista interferencia, el potencial permanecerá constante, pero cuando se produzca la interferencia se alterará el potencial medido respecto del que correspondería a la disolución que sólo contuviera analito. Esa variación del potencial nos permite calcular el coeficiente de selectividad según ésta ecuación (4.7):

$$K_{A,B} = \frac{a_A \left( 10^{\frac{\Delta E}{S}} \right) - a_A}{a_B^{\frac{z_a}{z_b}}} \quad (4.7)$$

Donde:  $a_A$  y  $z_a$  son la actividad y la carga, respectivamente, del ión principal,  $a_B$  y  $z_b$  corresponden a la actividad y la carga del ión interferente,  $\Delta E$  variación del potencial entre la disolución que contiene el analito y el interferente y la disolución

que solo contiene el analito en la misma concentración y  $S$  la pendiente de la recta de calibrado que se obtuvo con el electrodo para el analito estudiado.

En nuestro procedimiento mantenemos la concentración de analito fija en  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  y variamos la concentración de ión interferente desde  $1.00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  hasta  $1.00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ . Cuando el potencial medido para la disolución que contiene la máxima concentración de interferente no varía con respecto al obtenido para una disolución que contiene únicamente al analito, se considera que el coeficiente de selectividad es inferior a  $1.0 \times 10^{-4}$ . Cuando el potencial dado por la disolución con el interferente varía respecto del de la disolución que contiene únicamente el analito, se considera que interfiere y se procede al cálculo del coeficiente.

Para calcular el coeficiente de selectividad, se representa gráficamente  $a_{Cr} \left( 10^{\frac{\Delta E}{S}} \right)$  versus  $a_B^{\frac{Z_{Cr}}{Z_B}}$ . La pendiente de la recta de regresión obtenida al ajustar los datos de la representación a una recta es el coeficiente de selectividad  $K_{Cr,M}$ .

#### 4.1.8.1 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES DE DPCI.

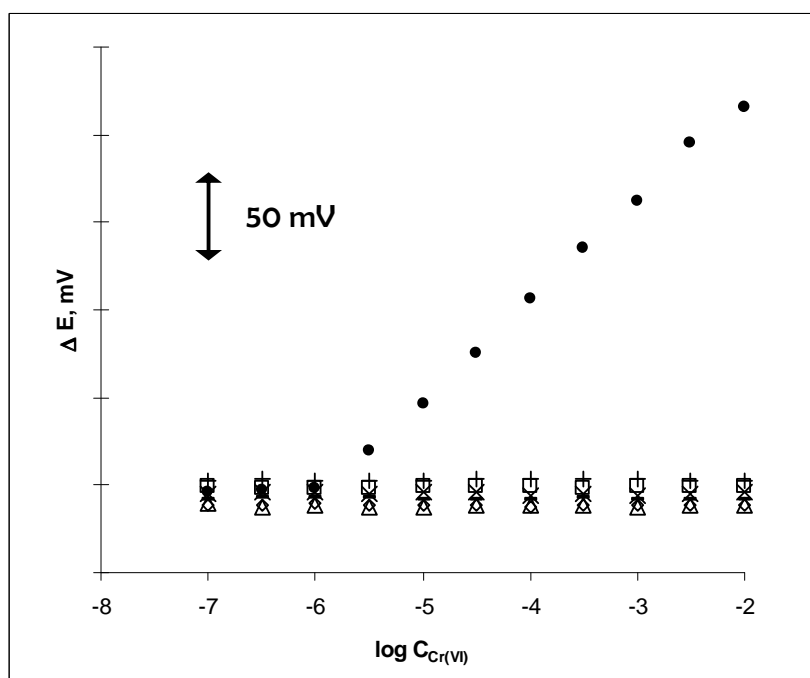
Como ya se ha comentado en el mecanismo de respuesta del electrodo, al interaccionar el cromato con DPCI en la superficie del electrodo en el proceso de activación de la membrana, se forma el complejo Cr(III)-DPCO. Los iones cobre, cadmio y el mercurio forman complejos con el ligando DPCI. Estos ligandos se consideran interferentes en el método espectrofotométrico del cromo (VI) [Marczenko, 1976; Navrátilová, 1991], porque pueden interaccionar reaccionando con dicho ligando, desplazando al cromo del complejo formado en la superficie del electrodo. Sin embargo, esta reacción se produce por complejación directa con el ligando y no por reacción redox. También se ha descrito en la bibliografía la determinación espectrofotométrica de cobre, plomo y cadmio basada en la reacción de complejación con la especie formada en la superficie del sensor tras los procesos de activación, es decir, con la DPCO [Geering y Hodgson, 1996; Yamada y col., 1982; Trinder, 1966]. De acuerdo a lo indicado, la posible competencia entre estos iones y el

cromo (III) por el ligando en la superficie del electrodo podría causar interferencias en la determinación de cromo (VI).

Por estos motivos, y a pesar de que la especie predominante del cromo (VI) en las condiciones experimentales de medida sea un anión, se evalúan los posibles efectos interferentes que los cationes y aniones más comunes pueden provocar en los análisis realizados con los sensores modificados con DPCI.

No se ha observado interferencia en la respuesta potenciométrica para ambos sensores por la presencia en la disolución de distintos aniones como  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$  o  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ . En la figura 4.33 se muestran las respuestas del sensor de pasta de carbón modificado con DPCI para algunas especies aniónicas. Como se observa en la figura no hay variación en el valor del potencial con la concentración de estas especies. Por tanto, se puede decir que la presencia de estas especies aniónicas en la disolución de medida no interfiere en la respuesta del sensor.

A continuación se evalúa el efecto que produce en la respuesta del sensor la presencia de distintos cationes en la disolución de medida. En la tabla 4.10 se comparan los coeficientes de selectividad calculados para los dos sensores construidos para cromo (VI) mediante ambos métodos de cálculo. Ningún metal alcalino ni alcalinoterreo de los ensayados ha mostrado interferencia en la respuesta potenciométrica de los sensores desarrollados. Los únicos cationes que presentan coeficientes de selectividad superiores a  $1.0 \times 10^{-4}$  son los cationes cobre, mercurio, plata y plomo, aunque todos ellos presentan, en general, valores inferiores a 1, salvo el ión  $\text{Ag}^+$  (II). El sensor de membrana rígida polimérica presenta coeficientes de selectividad inferiores al preparado con pasta de carbón. Como puede observarse en la tabla los coeficientes de selectividad para el sensor de membrana rígida polimérica son, al menos, una unidad logarítmica inferiores que los obtenidos para el electrodo de pasta de carbón. Este resultado podría explicarse por la mayor rigidez y robustez de la membrana polimérica rígida, que dificulta la interacción entre los compuestos formados en la superficie del sensor y los cationes metálicos de la disolución.



**Figura 4.33.** Respuesta potenciométrica del sensor PC-DPCI α: cromo (VI) (●),  $\text{SO}_4^{2-}$  (○),  $\text{Cl}^-$  (△),  $\text{PO}_4^{3-}$  (+),  $\text{I}^-$  (x),  $\text{AsO}_4^{3-}$  (□) y  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  (-).

Para todos los cationes ensayados y para los dos sensores los coeficientes de selectividad obtenidos empleando el FPM son mayores que los calculados con el MPM. Se debe al hecho de que con este último método no se tiene en cuenta la carga de los cationes para estimar el valor de los coeficientes.

La justificación de las interferencias observadas puede hacerse en base a la naturaleza química de la membrana y a la reactividad de ión cromato. Los iones como el plomo y la plata pueden reaccionar con dicho anión, reduciendo su concentración y produciendo una interferencia. Sin embargo, la disminución que se observa en el grado de interferencia para el sensor polimérico parece indicar que esta no es la única causa de la interferencia. Probablemente la interferencia se deba a la formación de los distintos complejos entre DPCI y DPCO de la superficie del sensor y los cationes metálicos [Marczenko, 1976; Navrátilová, 1991].



**Tabla 4.10.** Coeficientes de selectividad para los sensores de DPCI calculados con los métodos MPM y FPM. Concentración de Cr(VI)  $1.00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

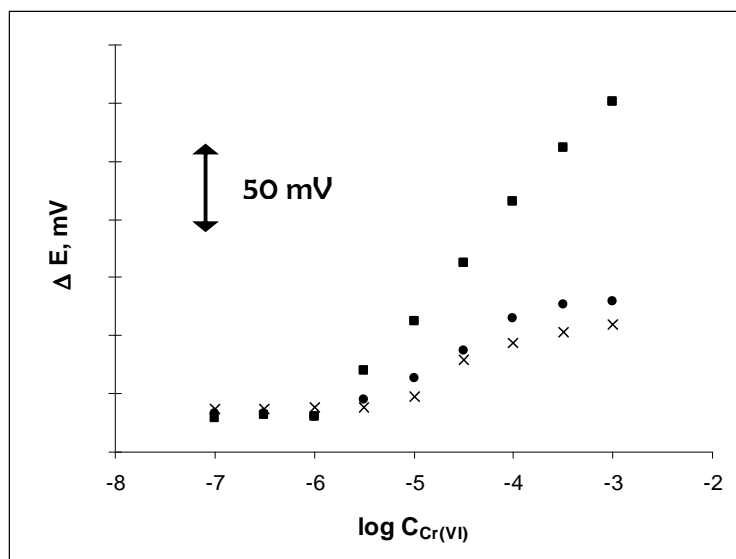
Ión interferente	PASTA DE CARBÓN		MATERIAL POLIMÉRICO	
	$\log K_{Cr, M}^{MPM}$	$\log K_{Cr, M}^{FPM}$	$\log K_{Cr, M}^{MPM}$	$\log K_{Cr, M}^{FPM}$
Cu <sup>2+</sup>	-2.667	-2.107	-3.662	-3.013
Zn <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Cd <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Hg <sup>2+</sup>	-0.344	0.191	-3.114	-2.251
Pb <sup>2+</sup>	-1.838	-0.621	-3.860	-2.909
Ca <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Ni <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
K <sup>+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Fe <sup>3+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Mg <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Al <sup>3+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Ag <sup>+</sup>	-3.173	-2.016	< -4	< -4

#### 4.1.8.2. EVALUACIÓN DE LA INTERFERENCIA PRODUCIDA POR ESPECIES OXIDANTES.

Debido al mecanismo redox propuesto para este sensor, se ha estudiado la influencia de algunas especies oxidantes en la respuesta potenciométrica de los sensores que contienen DPCI. Este estudio permitirá por una parte confirmar la respuesta del electrodo y también caracterizar la posibilidad de interferencia por estos compuestos. Las especies oxidantes seleccionadas para este ensayo han sido el permanganato y el persulfato en forma de KMnO<sub>4</sub> y K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.

Inicialmente se estudió la respuesta de un electrodo de pasta de carbón modificada con DPCI que no se ha puesto en contacto con cromo (VI), es decir, sin realizar la activación del electrodo. Para ello se añadieron cantidades crecientes de oxidante en una disolución de electrolito (NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup> ajustada a pH 3)

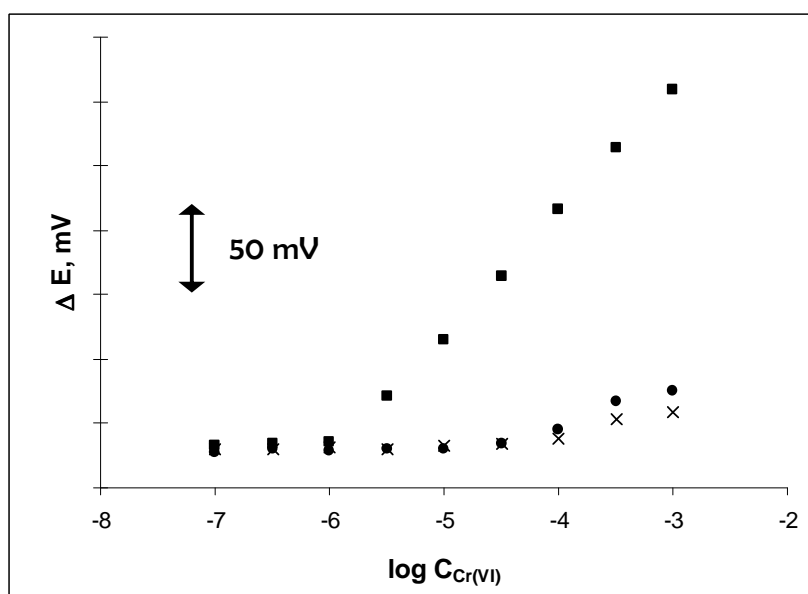
registrando el potencial. Los resultados obtenidos se reflejan en la figura 4.34 junto con la respuesta a cromo (VI) del electrodo activado.



**Figura 4.34.** Respuesta potenciométrica del sensor PC-DPCI en función de la concentración de diferentes especies: Sensor activado, respuesta al cromo (VI) (■); sensor sin activar, respuesta a persulfato (●) y permanganato (x).

Puede verse en la figura que tanto el permanganato como el persulfato dan lugar a un cambio en el potencial de respuesta del sensor, a concentraciones comprendidas entre a  $5.0 \times 10^{-6}$  y  $1.00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Una vez alcanzada dicha concentración, la señal se satura y el potencial prácticamente no varía. La pendiente de la respuesta potenciométrica de ambos aniones es similar, en torno a 30 mV dec<sup>-1</sup>, e inferior a la observada para el cromo (VI) (56.2 mV dec<sup>-1</sup>). Este comportamiento puede justificarse suponiendo una reacción redox entre el anión y el ligando DPCI presente en la superficie del electrodo que provoca un cambio en la relación DPCI/DPCO en la superficie del sensor. Una vez que todo el DPCI presente en la superficie del electrodo ha sido oxidado por el  $\text{MnO}_4^-$  o  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ , la relación DPCI/DPCO permanece constante no observándose variaciones en el valor del potencial.

La respuesta observada para los dos aniones oxidantes, cuando la superficie del electrodo es previamente activada, se muestra en la figura 4.35. En este caso sólo se observan ligeras variaciones en el potencial a concentraciones superiores a  $3.2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . La ausencia de respuesta confirma el mecanismo del proceso electródico. Al activar el electrodo, el DPCI presente inicialmente se ha reducido a DPCO, por lo que los aniones no pueden interaccionar con el electrodo, reduciendo su respuesta. La variación de señal obtenida a altas concentraciones puede deberse a una respuesta directa de los iones oxidantes sobre el propio electrodo de pasta de carbón, respuesta que ya ha sido descrita [Shamsipur y col., 2004].



**Figura 4.35.** Respuesta del sensor PC-DPCI previamente activado a: cromo (VI) (■), persulfato (●) y permanganato (x).

En presencia de cromo (VI) en la disolución, no se han observado cambios en el potencial de los sensores por la presencia de otros aniones oxidantes. Del estudio realizado se puede sacar la conclusión de que, si trabajamos con los sensores modificados con DPCI activados, los agentes oxidantes no tienen capacidad interferente significativa sobre la respuesta del sensor al analito.

## 4.1.8.3. SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES DE DHPE.

La tabla 4.11 muestra los resultados obtenidos para el electrodo modificado con DHPE en el análisis de su selectividad al cromo (III). Para este sensor, el principal mecanismo de interferencia será la competencia por el ligando en la superficie del electrodo entre el ión principal y los iones interferentes. De dicha tabla puede observarse que el sensor es altamente selectivo al analito. No se observan interferencias de iones alcalinos, alcalinotérreos y de muchos metales de transición divalentes. Las principales interferencias se encontraron para aluminio (III), hierro (III) y mercurio (II), que pueden formar complejos con DHPE [Won y col., 1995]. De los datos reflejados en la tabla vuelve a confirmarse la mejor selectividad encontrada para el sensor polimérico frente al de pasta de carbón, llegando a no observarse para este sensor interferencia por el ión de aluminio (III). Como en el caso de los sensores modificados con DPCI, los coeficientes de selectividad calculados por el MPM son inferiores a los obtenidos por el FPM. Por otra parte, tampoco para este sensor se ha observado interferencia en presencia de los aniones  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{AsO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , para los niveles de concentración ensayados (hasta  $0.010 \text{ mol L}^{-1}$ ).

**Tabla 4.11.** Coeficientes de selectividad de los sensores de DHPE calculados con los métodos MPM y FPM. Concentración inicial de Cr(III)  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

Ión interferente	PASTA DE CARBÓN		MATERIAL POLIMÉRICO	
	$\log K_{\text{MPM}_{\text{Cr}, M}}^{\text{MPM}}$	$\log K_{\text{Cr}, M}^{\text{FPM}}$	$\log K_{\text{MPM}_{\text{Cr}, M}}^{\text{MPM}}$	$\log K_{\text{Cr}, M}^{\text{FPM}}$
$\text{Cu}^{2+}$	< -4	-1.870	< -4	< -4
$\text{Zn}^{2+}$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{Cd}^{2+}$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{Hg}^{2+}$	-0.640	1.600	-2.680	-1.863
$\text{Pb}^{2+}$	< -4	-1.350	< -4	< -4
$\text{Ca}^{2+}$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{Ni}^{2+}$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{K}^+$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{Fe}^{3+}$	-0.050	0.610	-1.455	-0.985
$\text{Mg}^{2+}$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{NH}_4^+$	< -4	< -4	< -4	< -4
$\text{Al}^{3+}$	-1.050	-0.250	< -4	< -4
$\text{Ag}^+$	< -4	< -4	< -4	< -4

## 4.1.8.4 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES A LAS DIFERENTES ESPECIES DE CROMO.

Con el fin de evaluar la utilidad de los sensores en la determinación simultánea de cromo (VI) y cromo (III) en muestras donde ambos analitos pueden estar presentes se realiza un estudio para determinar la influencia que en la respuesta potenciométrica de los sensores selectivos a cromo (VI) tiene la presencia del cromo trivalente, y en los sensores selectivos a cromo (III) la presencia de cromo hexavalente.

Para llevar a cabo este estudio, se preparan una serie de disoluciones mezcla que contienen diversas concentraciones de cromo hexavalente y trivalente, en distinta relación, en  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$  a pH 3. A continuación se realiza la determinación directa de las concentraciones de cromo (VI) y cromo (III) usando sus correspondientes electrodos selectivos y se calcula la recuperación de cromo obtenida frente a la concentración puesta. El ensayo se ha realizado empleando tanto los sensores de membrana de pasta de carbón como los de membrana polimérica rígida.

En la tabla 4.12 se presentan las recuperaciones obtenidas, para un total de cinco determinaciones por disolución, en el análisis de las mezclas binarias con los sensores de pasta de carbón modificada y en la tabla 4.13 los resultados para los sensores de material polimérico.

**Tabla 4.12.** Determinación de cromo (VI) y cromo (III) en muestras binarias sintéticas usando los sensores PC-DPCI y PC-DHPE respectivamente.

Concentración teórica, $\text{mg L}^{-1}$		Relación Cr(III)/Cr(VI)	Recuperaciones, %	
Cr (III)	Cr (VI)		Cr (III)	Cr (VI)
23.0	0.230	100	$101 \pm 1$	$98 \pm 2$
2.30	0.230	10	$104 \pm 4$	$99 \pm 2$
2.30	1.15	2	$96 \pm 3$	$97 \pm 1$
2.30	2.30	1	$118 \pm 5$	$98 \pm 1$
2.30	11.5	0.2	$155 \pm 8$ ( $104 \pm 2$ )*	$97 \pm 1$
2.30	23.0	0.1	$343 \pm 11$ ( $109 \pm 4$ )*	$99 \pm 1$
0.230	23.0	0.01	< L.D.	$98 \pm 2$
0.0230	52.0	0.001	< L.D.	$100 \pm 1$

\* Entre paréntesis valores obtenidos después del tratamiento de la disolución con cambiador aniónico.

**Tabla 4.13.** Determinación de cromo (VI) y cromo (III) en muestras binarias sintéticas usando los sensores MP-DPCI y MP-DHPE respectivamente.

Concentración teórica, mg L <sup>-1</sup>		Relación Cr(III)/Cr(VI)	Recuperaciones, %	
Cr (III)	Cr (VI)		Cr (III)	Cr (VI)
5.20	0.0520	100	96±6	99±1
5.20	0.520	10	99±5	106±1
5.20	2.60	2	105±6	99±1
5.20	5.20	1	107±7	102±1
2.60	13.0	0.2	111±12	99±2
5.20	52.0	0.1	139±15 (106±8)*	102±1
0.52	52.0	0.01	151±25 (110±9)*	97±1
0.0520	52.0	0.001	< L.D.	100±1

\* Entre paréntesis valores obtenidos después del tratamiento de la disolución con cambiador aniónico

La determinación de la concentración del cromo (VI) en las muestras se realiza con buena exactitud obteniendo en todos los casos recuperaciones cercanas al 100% tanto si se emplean los sensores de pasta de carbón como los de membrana polimérica. Por tanto, la presencia de cromo (III) en la disolución de medida no interfiere en la respuesta potenciométrica de los sensores selectivos al cromo hexavalente. La ausencia de interferencia por parte del cromo (III), aunque en la superficie del electrodo exista un complejo de este ión, puede justificarse por la lenta cinética de la reacción de formación del complejo Cr(III)-DPCO.

Para los sensores selectivos al cromo trivalente se obtienen buenos resultados en cuanto a precisión y recuperación en la determinación de cromo (III) mientras que su concentración en la muestra sea igual o superior a la de la otra especie. Cuando la concentración de cromo (VI) es superior a la de cromo (III) se produce interferencia obteniéndose recuperaciones superiores al 100 %.

Para poder determinar de una manera fiable la concentración de cromo (III) en mezclas debemos eliminar la interferencia del cromo (VI). Esta interferencia puede eliminarse, en una primera aproximación y de una manera rápida y sencilla, utilizando una resina de cambio aniónico para retirar el ión cromato de la disolución. El procedimiento utilizado fue el siguiente:

*Se añade resina de cambio aniónico Amberlite IRA 400 cargada con cloruro (% reticulación, 16-50 mesh, capacidad 3.8 meg/g) a la disolución, en relación 0.25 mg*

*para 50.0 mL de disolución, y se mantiene en agitación constante magnéticamente durante 5 minutos. A continuación, sin separar la resina, se mide el potencial de la disolución sobrenadante con el sensor de cromo (III) y se determina su concentración.*

Los porcentajes de recuperación de cromo (III) en las muestras tratadas con la resina disminuyen hasta valores cercanos al 100 % lo que indica la eliminación del cromo hexavalente de la disolución (tablas 4.12 y 4.13). La ausencia de cromo (VI) en la disolución se confirmó por la ausencia de respuesta del sensor modificado con DPCI.

## 4.2. RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL SISTEMA DE MEDIDA EN FLUJO.

Debido al carácter tóxico del cromo y la necesidad de su control en vertidos industriales y de la determinación de su concentración en aguas, es interesante el desarrollo de sistemas para análisis del metal en continuo.

Los sensores utilizados en el análisis potenciométrico por inyección en flujo (*Flow Injection Potentiometry*, FIP, en adelante) deben ser robustos y de fácil adaptación para su incorporación en la célula de medida. Debido a la mayor fragilidad de los sensores basados en membranas de PVC los mejores sensores empleados en esta técnica suelen ser los de contacto interno sólido [Valcárcel y Luque de Castro, 1984]. En los sistemas en flujo se puede llevar a cabo la medida potenciométrica de dos formas diferentes: haciendo pasar la disolución de la muestra de manera continua por la superficie del sensor o inyectando la muestra dentro de una disolución de electrolito portadora que lleva éste hasta la superficie del electrodo.

El empleo de sistemas en flujo tiene una serie de ventajas frente al tradicional análisis en discontinuo. La principal ventaja es que con los sistemas FIP se obtiene una mayor precisión de la medida. Además, se necesitan menores volúmenes de muestra y se consigue, en muchos casos, realizar la medida en un tiempo menor. Comparada con las medidas en discontinuo con esta técnica también se suelen conseguir mejoras en la selectividad de la respuesta del analito. Esta mejora de la selectividad es debida a las diferencias cinéticas de la respuesta de los iones interferentes frente al ión principal. La principal desventaja encontrada en el empleo de las técnicas por inyección en flujo es el incremento de los límites de detección con respecto a las medidas en discontinuo realizadas usando el mismo sensor. Este menor límite de detección es consecuencia de la dispersión de la muestra en la disolución portadora.

De acuerdo a estos planteamientos, en este apartado se va a estudiar la respuesta de los distintos sensores desarrollados en sistemas en flujo. Inicialmente se ha optimizado el sistema de análisis potenciométrico por inyección en flujo, para conseguir las máximas sensibilidad y frecuencia de medida. Posteriormente, se han establecido las características de la respuesta del sensor, como son el intervalo lineal,



el límite de detección, la reproducibilidad de la medida de potenciales y la selectividad.

#### 4.2.1. SELECCIÓN INICIAL DE PARÁMETROS DE FLUJO.

Basándonos en los parámetros optimizados en el sistema de medida en estático se llevó a cabo una selección inicial de parámetros de medida. El primero de estos parámetros fue el electrolito soporte. De acuerdo a los resultados obtenidos en las secciones anteriores, se eligió como electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$  0.10 M a pH de 3 y, como sensor para los primeros estudios, una membrana de pasta de carbón con una relación modificador frente a polvo de grafito de 1:3.

Un parámetro de especial relevancia es la longitud del tubo que conecta la válvula de inyección con la célula de flujo. Cuanto mayor es esta longitud, mayor dispersión sufrirá el analito antes de llegar a la superficie del electrodo, lo que da lugar a señales más anchas y a un retraso en la aparición del pico y, por tanto, un límite de detección más alto y una menor frecuencia de análisis [Valcárcel y Luque de Castro, 1984]. Para minimizar este efecto se utiliza un tubo de la mínima longitud imprescindible para realizar la conexión. En nuestro caso se empleó un tubo de 23 cm con un diámetro interno de 0.30 mm.

#### 4.2.2. OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE MEDIDA EN FLUJO.

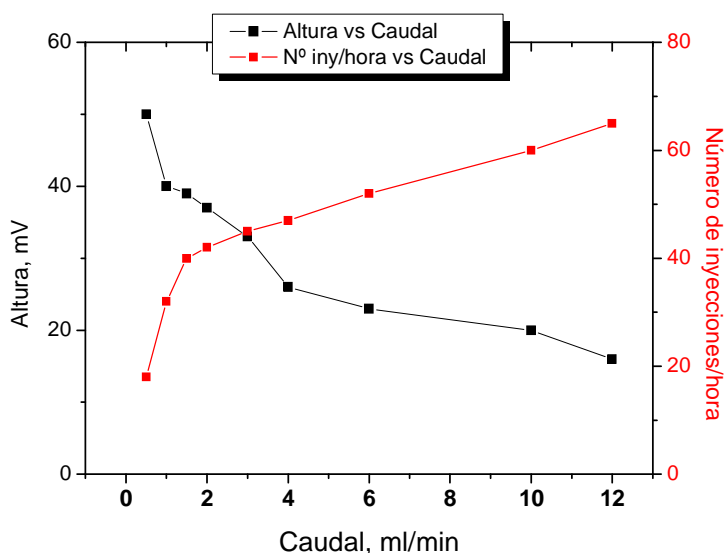
Para el desarrollo de los sistemas FIP para el análisis de las especies de cromo, una vez establecidas las condiciones iniciales, tenemos que fijar las condiciones óptimas de los parámetros de flujo. Los dos principales parámetros son el caudal, controlado por la bomba peristáltica, y el volumen de muestra inyectada.

Estos dos parámetros controlan, por una parte, la altura de pico (es decir la intensidad de la señal) y por otra la anchura de pico (que da lugar a tiempos más cortos de análisis). Un aumento del caudal disminuye la altura de las señales, lo que implica menores límites de detección, pero reduce la anchura de pico, lo que mejora la frecuencia del análisis. El comportamiento de la respuesta potenciométrica con el volumen de muestra inyectada presenta un comportamiento contrario: al aumentar

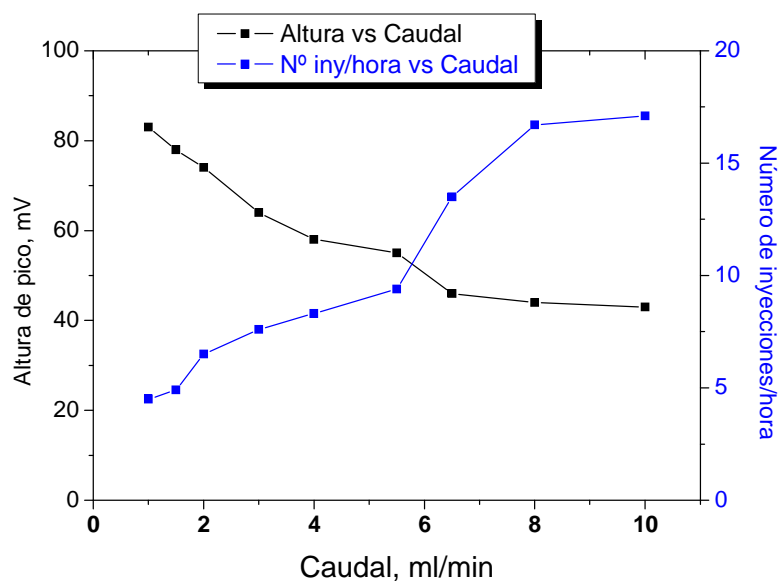
dicho volumen se produce un incremento de la intensidad de pico, pero se obtienen picos más anchos, lo que reduce el número de inyecciones por hora que podrían realizarse. Optimizados el caudal y el volumen de inyección, se establecerá el número de muestras que pueden analizarse por unidad de tiempo en el sistema (frecuencia de análisis).

La optimización de estos dos parámetros se realiza por separado. El objetivo es alcanzar la mejor relación entre la señal (dará lugar a una mayor sensibilidad) y la anchura de pico (que da lugar a tiempos más cortos de análisis) expresada esta última como número de inyecciones por hora. Una representación de la evolución de estas características en función del parámetro que variamos nos servirá para dilucidar cual es el valor óptimo. Las disoluciones control utilizadas en el estudio fueron  $1.00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de cromo (VI) para optimizar el sensor PC-DPCI y  $1.00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de cromo (III) para el electrodo PC-DHPE.

Para estudiar la influencia del caudal en la anchura y altura de pico, se registraron las señales obtenidas inyectando 500 µL de las disoluciones control de cromo (VI) y cromo (III) a distintos caudales comprendidos entre 0.50 y 12 mL min<sup>-1</sup>. Los resultados obtenidos para los sensores diseñados para cromo (VI) y cromo (III) se reflejan en las figuras 4.36 y 4.37, respectivamente.



**Figura 4.36.** Influencia del caudal sobre la altura de pico y la frecuencia de análisis para el sensor **PC-DPCI en el análisis de cromo (VI)**.

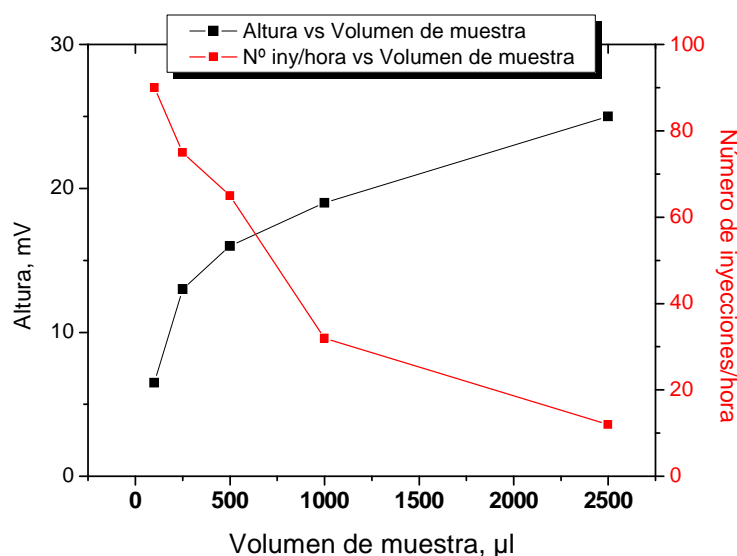


**Figura 4.37.** Influencia del caudal sobre la altura de pico y la frecuencia de análisis para el sensor **PC-DHPE en el análisis de cromo (III)**.

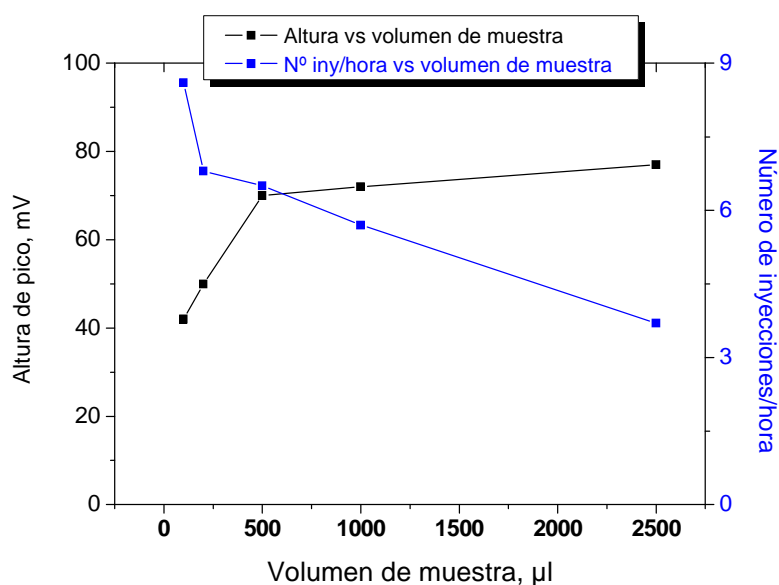
Puede verse en las figuras que la intensidad de la señal de cromo (VI) disminuye rápidamente hasta alcanzar un caudal de  $4 \text{ mL min}^{-1}$ , a partir del cual la disminución es más gradual. En el caso del cromo (III) la pérdida de señal es más gradual, siendo la pérdida muy lenta a caudales superiores a  $6.0 \text{ mL min}^{-1}$ . Este resultado está en consonancia con el tiempo de respuesta de los sensores, que es más corto para el sensor de cromo (III) (tabla 4.6). En cuanto a la frecuencia de muestreo, en el caso del cromo (VI) se incrementa rápidamente hasta un caudal de  $2.0 \text{ mL min}^{-1}$  observándose un incremento más gradual a caudales más altos. En el caso de cromo (III), también se observa un incremento de la frecuencia de análisis con el caudal, pero es menos acusado que el obtenido para el cromo (VI). Para estudios posteriores se elige un caudal de compromiso de  $2.0 \text{ mL min}^{-1}$  para el sensor de cromo (VI) y de  $4.0 \text{ mL min}^{-1}$ , para el de cromo (III), valores para los que se obtiene la mejor relación altura/anchura de pico.

El otro factor que influye en la respuesta potenciométrica en flujo es el volumen de inyección. Para su optimización se fijó el caudal en las condiciones óptimas para cada ión, y se varió el volumen de inyección entre 0.100 y 2.50 mL. Los resultados para cromo (VI) y cromo (III) se pueden observar en las figuras 4.38 y 4.39, respectivamente. Puede comprobarse que se produce un incremento rápido de la señal hasta un volumen de inyección de 500  $\mu\text{L}$ , a partir del cual el incremento es

menos acusado, especialmente para el cromo (III). Al aumentar el volumen de inyección de muestra se observa una disminución en la frecuencia de análisis. Esta disminución es más acusada en el caso del cromo (VI), siendo menor para volúmenes de muestra superiores a 1.00 mL. En el caso del cromo (III), la frecuencia de análisis disminuye más lentamente para volúmenes de inyección superiores a 0.25 mL. Por lo tanto, el volumen de inyección más adecuado es 500  $\mu\text{L}$  para ambos sensores.



**Figura 4.38.** Influencia del volumen de inyección sobre la altura de pico y la frecuencia de análisis para el sensor **PC-DPCI en el análisis de cromo (VI)**.



**Figura 4.39.** Influencia del volumen de inyección sobre la altura de pico y la frecuencia de análisis para el sensor **PC-DHPE en el análisis de cromo (III)**.

De acuerdo a los resultados obtenidos, para obtener los mejores resultados en el análisis de las especies de cromo se eligen las condiciones que se resumen en la tabla 4.14. En dicha tabla también se reflejan las frecuencias de análisis obtenidas en dichas condiciones.

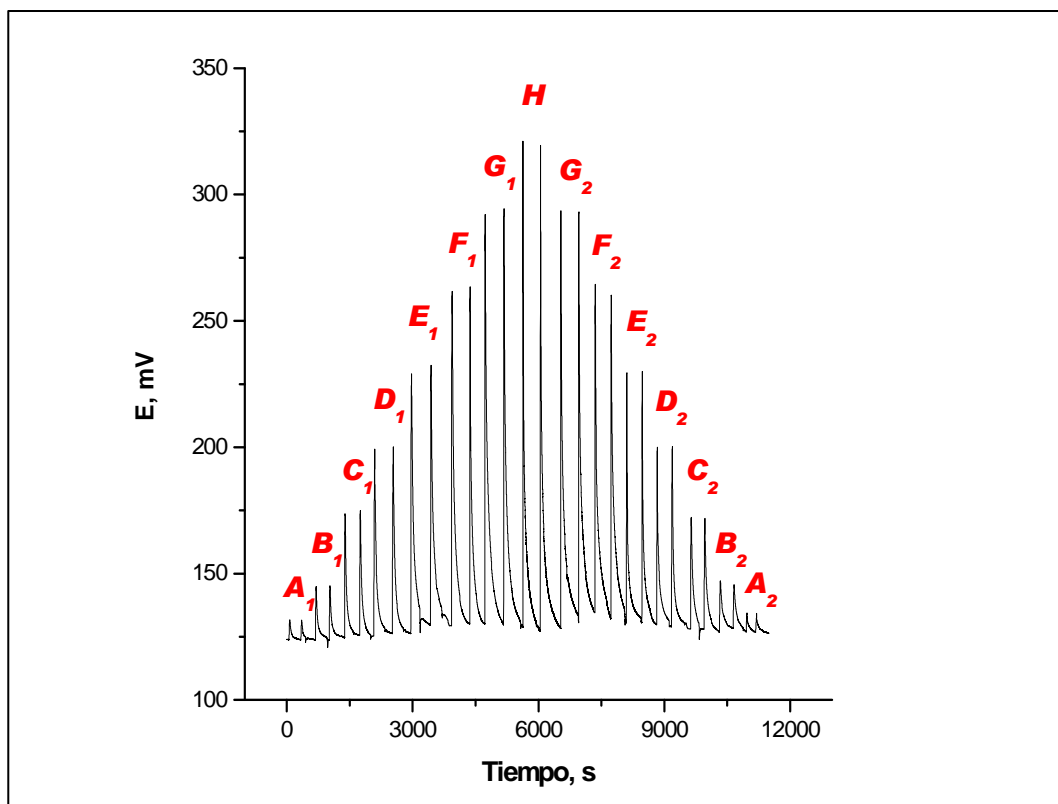
**Tabla 4.14.** Parámetros seleccionados para la medida en flujo con ambos electrodos.

Analito	Sensor	Caudal, mL min <sup>-1</sup>	Volumen de muestra, µl	Frecuencia de análisis (inyecciones h <sup>-1</sup> )
Cr (VI)	PC-DPCI	2.0	500	55
Cr (III)	PC-DHPE	4.0	500	7

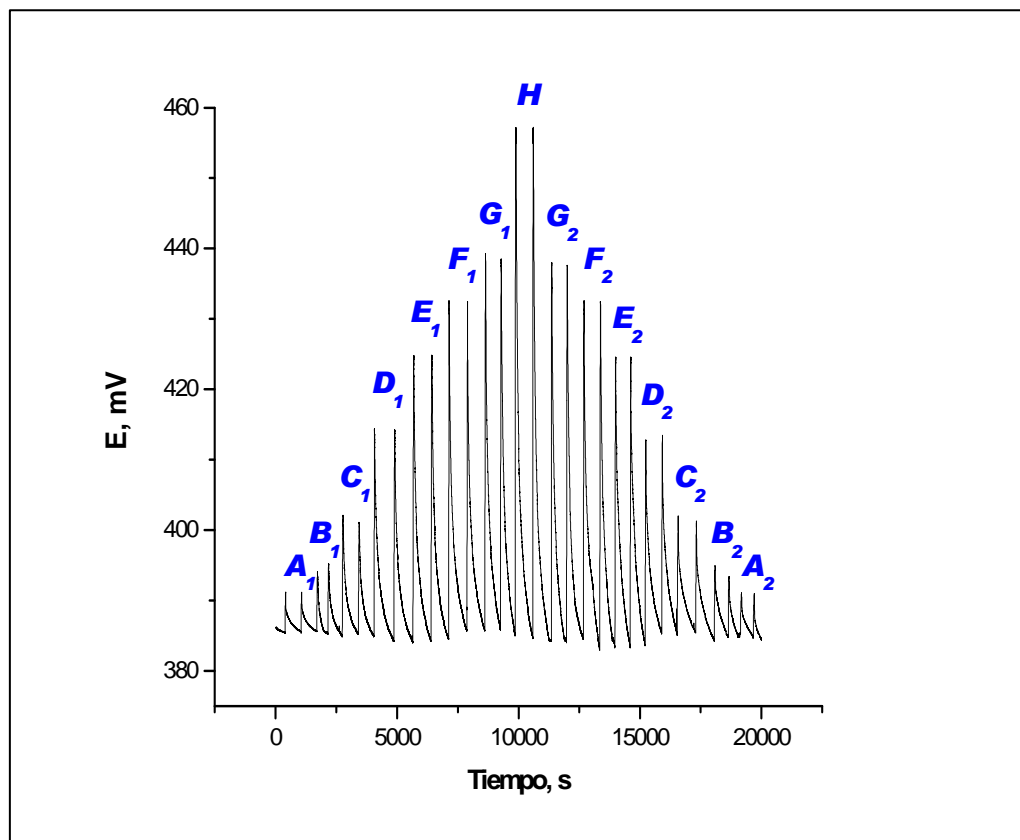
#### 4.2.3. CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL ANÁLISIS EN FLUJO.

Una vez determinadas las condiciones más adecuadas para llevar a cabo la medida en continuo, se llevó a cabo la caracterización de la respuesta potenciométrica en flujo de los sensores. En este estudio se utilizaron disoluciones de cromo (VI) y cromo (III), en electrolito soporte, de concentraciones comprendidas entre  $1.00 \times 10^{-8}$  a 0.100 M. Las disoluciones se inyectaron en el sistema FIP en las condiciones óptimas, primero en orden creciente en concentración y posteriormente en orden decreciente. En las figuras 4.40 y 4.41 se muestran las señales potenciométricas obtenidas para los sensores PC-DPCI y PC-DHPE, respectivamente.

Como puede observarse en las figuras, las respuestas de los sensores son reversibles, respondiendo rápidamente a cualquier cambio en la concentración. También se observa que la repetitividad de la respuesta potenciométrica es muy buena, obteniendo variaciones en las señales para la misma concentración inferiores a  $\pm 1$  mV.

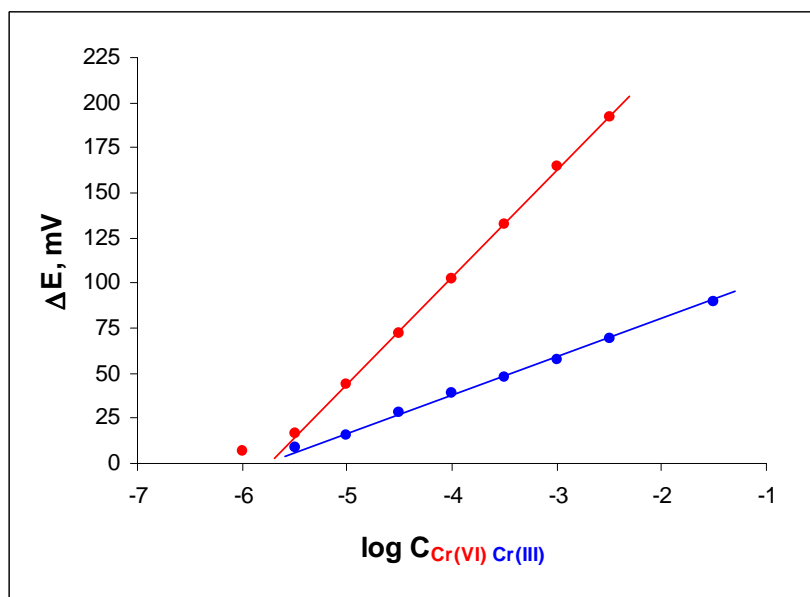


**Figura 4.40.** Señales potenciométricas obtenidas con el sensor de **PC-DPCI** de dos inyecciones repetidas de disoluciones de **Cr (VI)** de concentración (en mol L<sup>-1</sup>):  $1.00 \times 10^{-6}$  (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-6}$  (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-5}$  (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-5}$  (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-4}$  (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-4}$  (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-3}$  (G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-3}$  (H). Condiciones: 2.0 mL min<sup>-1</sup>; 500 µl volumen de inyección; disolución portadora NaNO<sub>3</sub> 0.1 M, pH 3.



**Figura 4.41.** Señales potenciométricas obtenidas con el sensor de **PC-DHPE** de dos inyecciones repetidas de disoluciones de **Cr (III)** de concentración (en mol L<sup>-1</sup>):  $3.16 \times 10^{-6}$  (A<sub>1</sub>,A<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-5}$  (B<sub>1</sub>,B<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-5}$  (C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-4}$  (D<sub>1</sub>,D<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-4}$  (E<sub>1</sub>,E<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-3}$  (F<sub>1</sub>,F<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-3}$  (G<sub>1</sub>,G<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-2}$  (H). Condiciones: 4.0 mL min<sup>-1</sup>; 500 µl volumen de inyección; disolución portadora NaNO<sub>3</sub> 0.10 M, pH 3.

Las curvas de calibrado obtenidas representando la altura de pico frente a logaritmo de la concentración se refleja en la figura 4.42. Se observa que el electrodo PC-DPCI tiene un menor intervalo de respuesta lineal que el electrodo de PC-DHPE, ya que éste último pierde la linealidad a concentraciones de  $3.16 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de cromo (III) mientras que el sensor de cromo (VI) dicha pérdida se produce a concentraciones de  $3.16 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>.



**Figura 4.42.** Curvas de calibrado correspondiente a los sensores **PC-DPCI** y **PC-DHPE** de altura de pico en función del logaritmo de la concentración del **Cr(VI)** y **Cr(III)**, las rectas representan el ajuste lineal correspondiente.

A continuación se estableció el límite de detección de la medida. La metodología utilizada para calcular el límite de detección para análisis en flujo difiere de la aplicada en el caso de las medidas potenciométricas en discontinuo [ISO 11843-1, 1997; IUPAC, 1995; Currie, 1997]. El límite de detección se define como la concentración de analito que da una señal que difiere significativamente del blanco y, para su cálculo se emplea la desviación estándar de la señal fondo y la pendiente de la recta de calibrado. La expresión que corresponde a la concentración del límite de detección se expresa en la ecuación 4.8.

$$L_D = \frac{3.3\sigma_B}{s} \quad (4.8)$$

Siendo  $\sigma_B$  la desviación estándar de la señal de fondo y  $s$  la pendiente de la recta de calibrado.

Los límites de detección obtenidos para el cromo (VI) y el cromo (III) en las medidas en continuo se muestran en la tabla 4.15 donde se comparan los intervalos



de respuesta lineal y las pendientes de las rectas de calibrado obtenidos en las medidas en estático y en continuo para ambos sensores.

**Tabla 4.15.** Comparación de los parámetros analíticos obtenidos con los sensores de pasta de carbón modificada en modo estático y con el sistema en flujo.

Sensor	Tipo de análisis	Intervalo de respuesta lineal, log C <sub>Cr</sub> , mol L <sup>-1</sup>	Pendiente, mV década <sup>-1</sup>	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>
DPCI-Cr(VI)	FIP	-5.5 a -2.5	59.1	1.80x10 <sup>-6</sup>
	Estático	-6.0 a -2.0	56.2	9.14x10 <sup>-7</sup>
DHPE-Cr(III)	FIP	-5.5 a -1.5	17.7	2.69x10 <sup>-6</sup>
	Estático	-6.0 a -3.0	20.5	6.92x10 <sup>-7</sup>

Los resultados muestran que utilizando el sistema FIP se obtiene un intervalo lineal menor para el cromo (VI) que en medidas en continuo, mientras que para el cromo (III) el intervalo lineal es mayor, pudiéndose medir concentraciones más altas de analito.

Las sensibilidades obtenidas por ambos sensores en las medidas en continuo y en estático son muy similares. Para el sensor PC-DPCI la sensibilidad obtenida en FIP es ligeramente superior, mientras que para el sensor PC-DHPE se obtiene una menor sensibilidad en la medida en continuo.

El límite de detección para el sensor PC-DPCI es ligeramente superior en modo FIP frente al obtenido en medidas en discontinuo (de 9.14x10<sup>-7</sup> a 1.80x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>), siendo este incremento inferior a una década de concentración. Para el sensor PC-DHPE se produce un aumento más marcado del límite de detección (de 2.69x10<sup>-6</sup> a 6.92x10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>).

## 4.2.4. SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES EN UN SISTEMA EN FLUJO.

Como se ha comentado al principio de esta sección, una de las principales ventajas de la medida en flujo es que suele presentar una mayor selectividad comparada con la medida en discontinuo. De acuerdo a estas premisas se estudió la selectividad de la medida en los sistemas FIP optimizados.

El método de cálculo de los coeficientes de selectividad empleado para hacer la comparación ha sido el Método de Ión Primario Constante (FPM). Se fijó una concentración de analito de  $1.00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para ambas especies de cromo. La concentración de los interferentes se varió desde  $1.00 \times 10^{-7}$  hasta 0.100 mol L<sup>-1</sup>. En la tabla 4.16 se comparan los valores de los coeficientes de selectividad obtenidos, para los dos sensores investigados, en el sistema FIP y en medidas en discontinuo.

**Tabla 4.16.** Coeficientes de selectividad, como  $\log K_{Cr, M}^{FPM}$  de los sensores potenciométricos desarrollados en pasta de carbón modificada.

Ión interferente	SENSOR DPCI-Cr(VI)		SENSOR DHPE-Cr(III)	
	SISTEMA EN ESTÁTICO	SISTEMA EN FLUJO	SISTEMA EN ESTÁTICO	SISTEMA EN FLUJO
Cu <sup>2+</sup>	-2.10	< -4	-1.870	< -4
Zn <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Cd <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Hg <sup>2+</sup>	0.19	< -4	1.600	-1.382
Pb <sup>2+</sup>	-0.62	< -4	-1.350	< -4
Ca <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Ni <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
K <sup>+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Fe <sup>3+</sup>	< -4	< -4	0.610	-1.654
Mg <sup>2+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	< -4	< -4	< -4	< -4
Al <sup>3+</sup>	< -4	< -4	-0.250	-1.244
Ag <sup>+</sup>	-2.01	-1.037	< -4	< -4
Cr <sup>3+</sup>	< -4	< -4	-	-
CrO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	-	-0.930	-3.490

Los resultados obtenidos muestran una mayor selectividad del sensor PC-DPCI al cromo hexavalente que la del sensor PC-DHPE al cromo trivalente tanto en las medidas en continuo como en las medidas en estático. Ambos sensores presentan respuestas más selectivas en las medidas en flujo, obteniéndose valores menores de los coeficientes de selectividad, excepto el del ión plata (I) para el sensor PC-DPCI, que sufre un ligero aumento.

Los resultados más llamativos son las disminuciones de las interferencias del mercurio (II) para ambos sensores y del hierro (III) y aluminio (III) para el sensor PC-DHPE. También es importante destacar la disminución del grado de interferencia del cromo (VI), observándose un coeficiente de selectividad tres órdenes de magnitud más bajo.

Además de los cationes, también se investigó la posible interferencia por especies aniónicas. Las especies que se ensayaron fueron:  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$  y  $\text{AcO}^-$ . Ninguna de estas especies aniónicas dio lugar a interferencia, como ya sucediera en las medidas del sistema en estático.

La mayor selectividad observada en las medidas en flujo es debida, probablemente, a la menor rapidez de respuesta de los iones interferentes frente al ión principal, como consecuencia de que en el sistema en flujo se renueva continuamente la disolución de medida.

## 4.3 ELECTRODOS SERIGRAFIADOS DE CARBÓN CON MATERIAL POLIMÉRICO MODIFICADO.

En este apartado de la memoria vamos a mostrar los estudios encaminados al desarrollo de sensores potenciométricos basados en la modificación de electrodos serigrafados convencionales. Debido a la ausencia de electrodos comerciales con sólo dos electrodos, de trabajo y de referencia, se ha optado por el uso de sensores comerciales para medidas voltamperométricas, constituidos por tres electrodos. El sistema que se emplea tiene carbón como material del electrodo de trabajo y del electrodo auxiliar, y plata como electrodo de referencia. El objetivo es conseguir electrodos selectivos de bajo coste, pudiendo de esta manera ser desechables, que permitan realizar el análisis empleando pequeños volúmenes de muestra.

Para la construcción del sensor, se recubrió la superficie del electrodo de trabajo del SCPE con una fina membrana de material polimérico, cuya composición es la que dio lugar a los mejores resultados en el estudio con los sensores de diseño tubular. Por lo tanto, la proporción de modificador en la matriz del sensor se mantiene constante al 12.5%, con un porcentaje de polvo de grafito del 37.5% y un porcentaje de resina EPOFIX<sup>®</sup> del 50.0%. Se obtienen así dos sensores: uno modificado con DPCI para la detección de cromo (VI) (SP-DPCI, en adelante) y otro modificado con DHPE para el análisis de cromo (III) (SP-DHPE, en adelante).

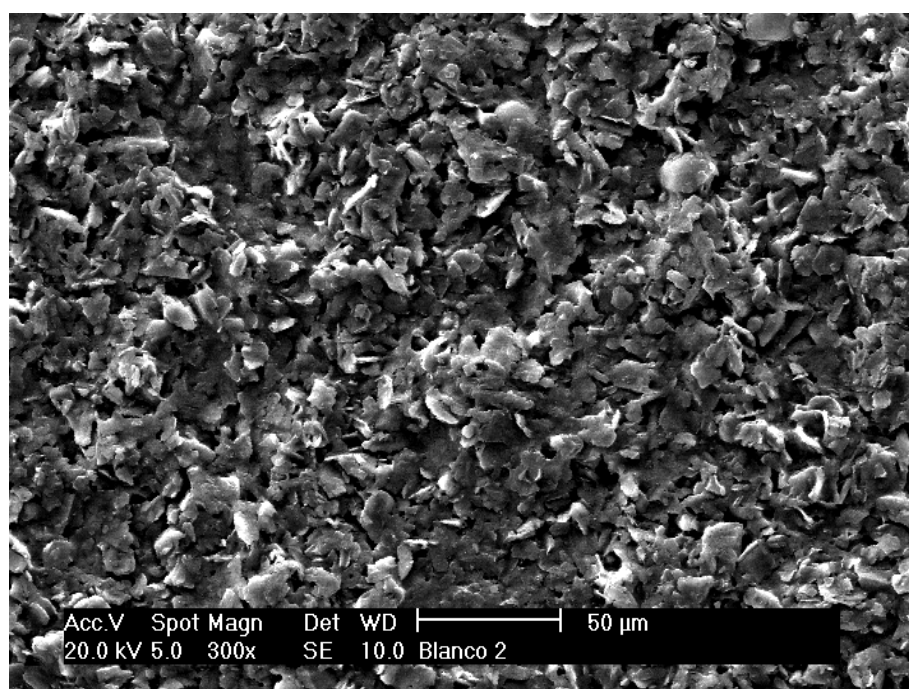
Las medidas se realizan tanto en discontinuo como en flujo. El procedimiento de medida en estático difiere del seguido con electrodos convencionales. En el caso de los SCPE modificados se lleva a cabo la medida de la disolución depositando un pequeño volumen sobre su superficie, de manera que cubra tanto el electrodo de trabajo como el de referencia.

Al igual que en el apartado de los sensores convencionales, los resultados se presentan divididos en dos apartados. El primero está dedicado al análisis en estático donde se incluye la caracterización de la respuesta potenciométrica de los sensores. En el segundo se describe la optimización de los parámetros óptimos de análisis en flujo y las propiedades analíticas obtenidas.

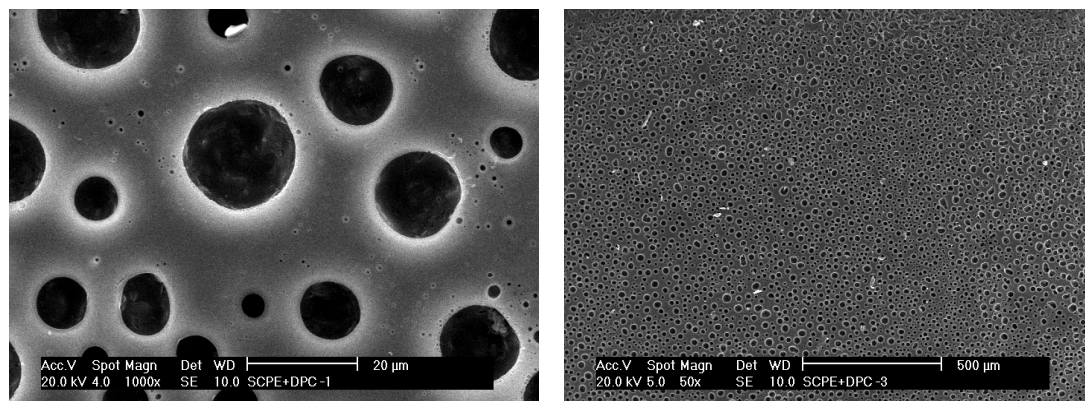
#### 4.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LOS SENSORES.

Como en el caso de los sensores de diseño tubular se caracteriza la superficie de los sensores serigrafiados empleando SEM-EDAX.

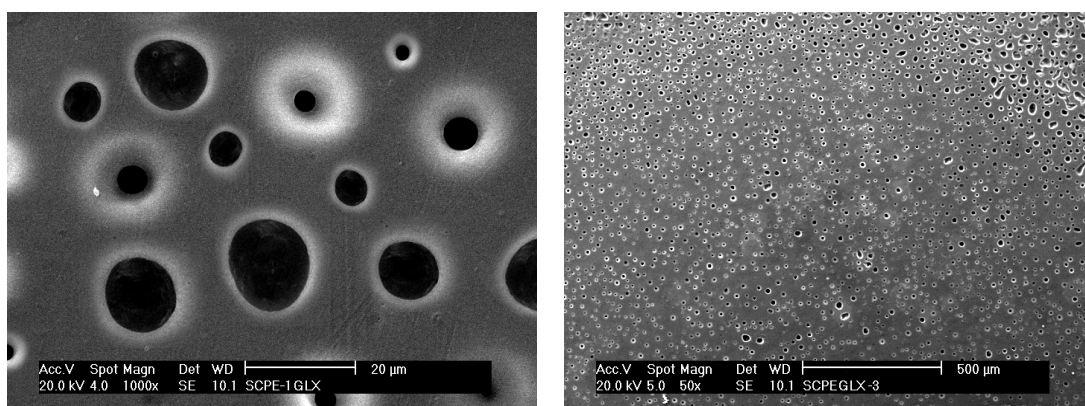
Mientras que las imágenes de microscopía de electrónica del electrodo de trabajo sin modificar del SCPE muestran una superficie rugosa, característica de los electrodos de carbón, como puede verse en la figura 4.43, en las figuras de la 4.44 a la 4.47 se observan las imágenes obtenidas tras la modificación del electrodo de trabajo con el material polimérico con DPCI y DHPE. En todos los casos se observa una superficie mucho más lisa además de la aparición de pequeños y numerosos orificios circulares. A la vista de las figuras, ambas superficies parecen morfológicamente idénticas.



**Figura 4.43.** Imagen SEM de la superficie del electrodo de trabajo del SCPE compuesto únicamente por carbón sin material polimérico que lo recubra.



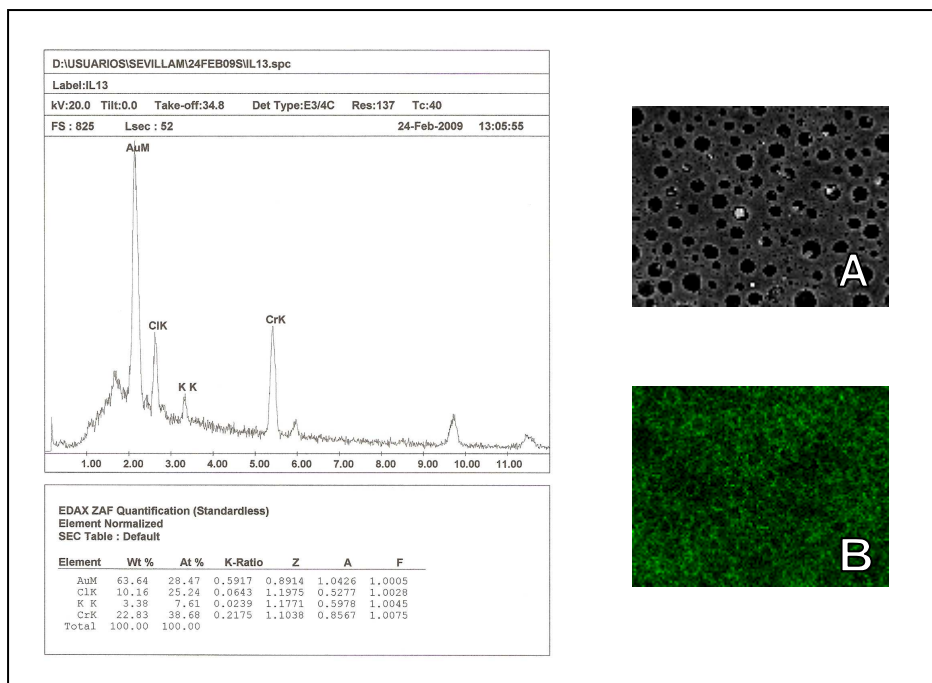
**Figuras 4.44 y 4.45.** Imágenes SEM de la superficie del material polimérico modificado con **DPCI** que recubre el electrodo de trabajo del electrodo serigrafiado de carbón.



**Figuras 4.46 y 4.47.** Imágenes SEM de la superficie del material polimérico modificado con **DHPE** que recubre el electrodo de trabajo del electrodo serigrafiado de carbón.

La explicación a la presencia de estos orificios puede encontrarse en el proceso de curado del material polimérico. Mientras el material polimérico permanece en estado líquido (viscoso) se forman pequeñas burbujas de aire en la parte más superficial, de modo que al endurecerse el polímero estas burbujas van dejando orificios en la superficie. Los sensores convencionales fabricados con este material eran pulidos con pasta de diamante obteniéndose una superficie más lisa en la que no se apreciaban este tipo de cavidades. Sin embargo, como en los sensores serigrafiados no se lleva a cabo el proceso de pulido de la superficie se observan los orificios debidos a las burbujas de aire que quedan ocluidas en el material polimérico durante el proceso de curado.

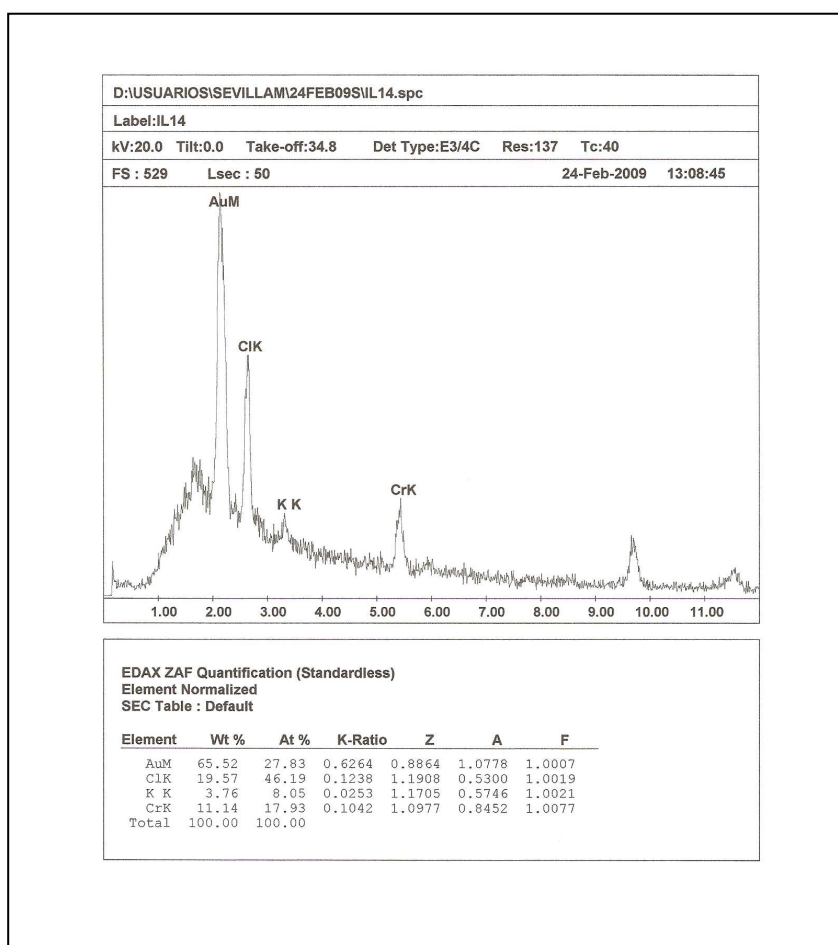
Se procedió a continuación a realizar el análisis de la superficie mediante EDAX (figura 4.48). Se elige una superficie de 60000  $\mu\text{m}^2$ , representativa de la superficie total del electrodo de trabajo.



**Figura 4.48.** EDAX de la superficie del material polimérico modificado con **DPCI** del electrodo de trabajo del sensor serigrafiado previamente activado. A la izquierda se presenta el espectro de emisión de rayos X. La imagen A corresponde a la imagen tomada por SEM de la zona analizada. La imagen B es el mapa de densidades atómicas de la misma zona donde aparece resaltado en color verde el cromo encontrado.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el análisis de los sensores convencionales de material polimérico, sólo se realiza el análisis de los sensores cuya superficie previamente ha sido activada con el cromo. Aunque se observa la señal debida a la presencia de cromo tanto para el sensor modificado con DPCI como con DHPE (figuras 4.48 y 4.49, respectivamente), estas son menores que las obtenidas en los espectros de rayos X realizados a los sensores convencionales. Puede deberse a que hay menor cantidad del elemento en cuestión, o bien que se encuentre a mayor profundidad que en las otras superficies analizadas. Esta segunda explicación es más plausible en este caso puesto que el material no ha sido pulido. Probablemente en la zona más superficial del material polimérico se encuentre mayor proporción de la resina epoxi que del modificador respecto de una superficie pulida, siendo más difícil detectar la acumulación de cromo.

La radiación procedente del cromo para el sensor modificado con DHPE es tan tenue que no permite obtener el mapa de densidades atómicas con una mínima resolución. Sólo es posible estudiar la acumulación de cromo en la superficie del sensor modificado con DPCI. Como puede observarse en la figura 4.48 el cromo se distribuye en la superficie del sensor de manera más o menos homogénea. En algunos casos parece que la acumulación es mayor en los bordes de los orificios formados en el proceso de curado del material.



**Figura 4.49.** Espectro de rayos X obtenido mediante EDAX de la superficie del material polimérico modificado con **DHPE** del electrodo de trabajo del sensor serigrafiado previamente activado.



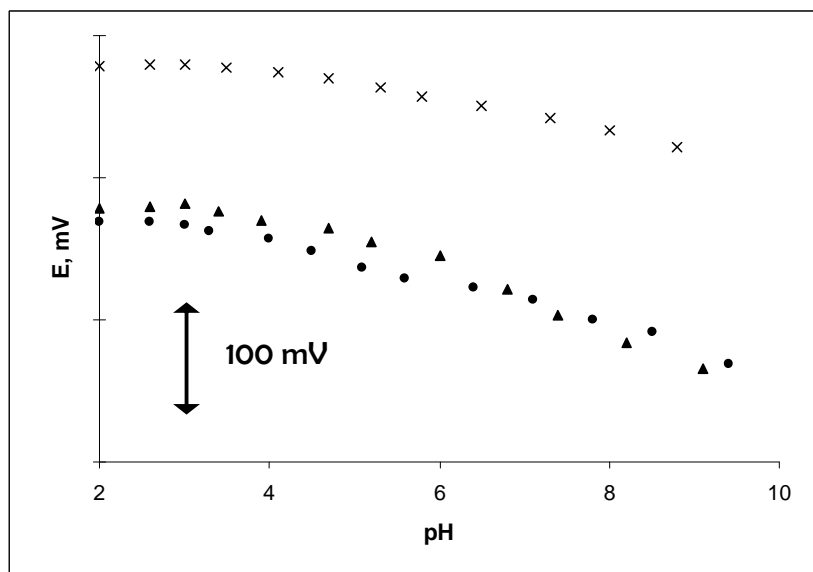
#### 4.3.2 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES SERIGRAFIADOS MODIFICADOS: MEDIDAS EN ESTÁTICO.

Al igual que en apartados anteriores, todas las medidas se hicieron en presencia de una disolución de  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ , ajustado a pH de 3 con ácido nítrico, como electrolito soporte. En primer lugar se estudia la influencia del valor de pH de la disolución de medida en la respuesta potenciométrica del sensor. Después se determina el tiempo de respuesta y el límite de detección, lo que nos lleva a establecer los parámetros analíticos básicos. Finalmente se realiza un estudio de la selectividad del sensor potenciométrico a los analitos y de la estabilidad de su respuesta con el tiempo.

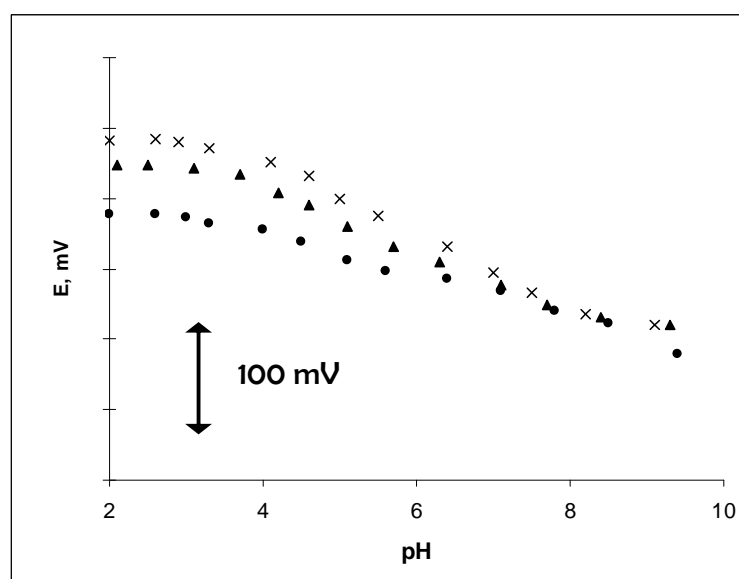
##### 4.3.2.1 INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA RESPUESTA DEL SENSOR.

Para estudiar la respuesta del sensor en función del pH, se prepararon disoluciones, a distintos valores de pH, en presencia y en ausencia de ion. El estudio se realiza empleando los sensores modificados con DPCI y DHPE y un sensor cuya superficie se recubre con material polimérico que sólo contiene el polvo de grafito y la resina epoxi en igual proporción. Para realizar la medida, se depositan  $100 \mu\text{L}$  de disolución de distintos valores de pH sobre los electrodos de trabajo y referencia y se mide el potencial.

En las figuras 4.50 y 4.51 se representa la variación de dicho potencial para los sensores SP-DPCI y SP-DHPE respectivamente. En ambos casos se compara la respuesta con la obtenida con el sensor serigrafiado recubierto con material polimérico sin modificar.



**Figura 4.50.** Respuesta potenciométrica del SPCE con material polimérico sin modificar (●), modificado con un 12.5 % de **DPCI** en ausencia (▲) y en presencia de **Cr (VI)**  $3.20 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  (x) en función del pH de la disolución. Electrolito soporte:  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ .



**Figura 4.51.** Respuesta potenciométrica del SPCE con material polimérico sin modificar (●), modificado con un 12.5 % de **DHPE** en ausencia (▲) y en presencia de **Cr (III)**  $1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (x) en función del pH de la disolución. Electrolito soporte:  $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ .

Puede verse en la figura 4.50 como los electrodos serigrafados recubiertos con material polimérico sin modificar o modificados con DPCI presentan una

variación del potencial en función del pH de la disolución de medida de  $-10 \text{ mV pH}^{-1}$  en ausencia del analito. En presencia de cromo (VI), la variación de la respuesta del sensor SP-DPCI disminuye hasta  $-5 \text{ mV pH}^{-1}$ . Si se compara este valor con los obtenidos para los electrodos convencionales se puede comprobar que esta variación es menor a la obtenida para el electrodo convencional de material polimérico ( $-12 \text{ mV pH}^{-1}$ , figura 4.23).

En cuanto al sensor SP-DHPE, sensible a cromo (III), se observa una respuesta también similar a la del sensor convencional en la figura 4.51. A valores de pH inferiores a 4, el potencial apenas varía con el pH. A valores de pH superiores a ese valor, se observa una pendiente de  $-12$  y  $-14 \text{ mV pH}^{-1}$  en ausencia y en presencia del analito, respectivamente, valores ligeramente superiores que los obtenidos por el sensor recubierto con material polimérico sin modificar. Este comportamiento es similar al observado con el electrodo de MP-DHPE (para el que se obtienen pendientes de  $-9$  y  $-15 \text{ mV pH}^{-1}$  respectivamente, figura 4.24).

La comparación de los resultados obtenidos entre estos sensores frente a los descritos anteriormente en este trabajo lleva a la conclusión de que el material polimérico no cambia sus propiedades en función del pH al depositarse sobre el SCPE.

#### 4.3.2.2 TIEMPO DE RESPUESTA.

Para establecer el tiempo de respuesta de los electrodos serigrafados con material polimérico modificado se ha llevado a cabo el mismo procedimiento que con los electrodos convencionales (descrito en el apartado 4.1.5 de este capítulo). De acuerdo con la precisión observada en la medida de los potenciales, se ha elegido una variación de potencial límite de  $0.5 \text{ mV min}^{-1}$  para la estimación del tiempo de respuesta.

En la tabla 4.17 se comparan los tiempos de respuesta obtenidos con los sensores desarrollados sobre electrodos serigrafados y con los electrodos convencionales tubulares descritos anteriormente. Los datos reflejan los valores promedio de tiempos de respuesta obtenidos para los incrementos de concentración realizados.

En dicha tabla se observa que los sensores basados en electrodos serigrafados presentan tiempo de respuesta rápidos. Comparados con los tiempos de respuesta obtenidos para los sensores convencionales vemos que mientras que el sensor SP-DPCI presenta un tiempo similar al obtenido para su homólogo convencional, el sensor SP-DHPE presenta tiempos de respuesta significativamente mayores que los obtenidos con los anteriores electrodos sensibles a este analito.

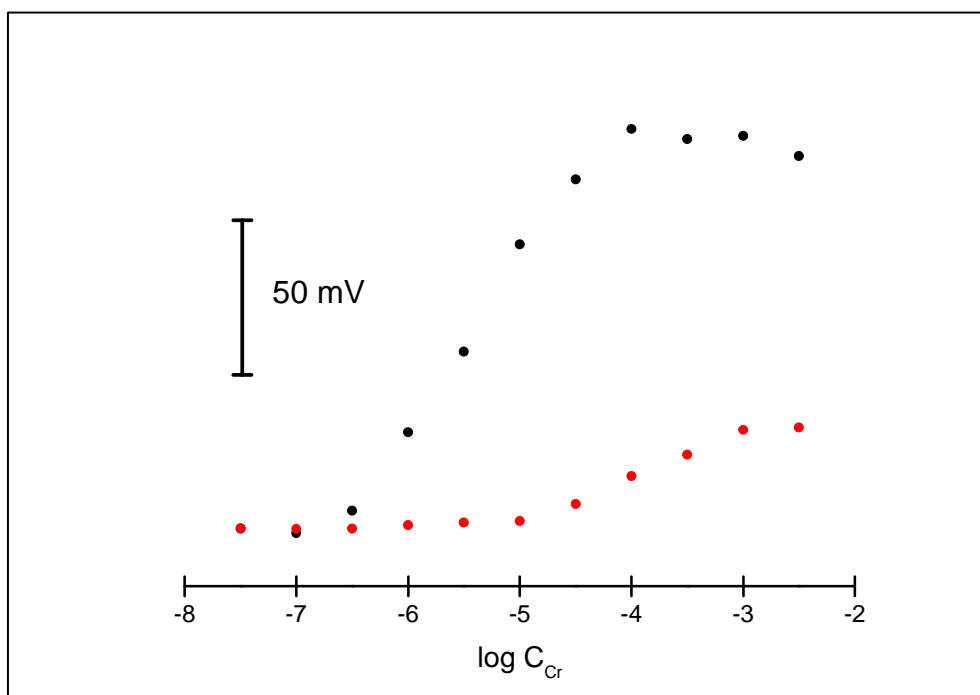
**Tabla 4.17.** Comparación de los tiempos de respuesta obtenidos para los sensores de Cr (VI) y Cr (III) construidos con matrices de pasta de carbón y poliméricas.

Tipo de sensor	Modificador	Tiempo de respuesta, s
PC	DPCI	21±2
	DHPE	7±1
MP	DPCI	16±2
	DHPE	9±2
SP	DPCI	16±2
	DHPE	19±2

#### 4.3.2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA. LÍMITES DE DETECCIÓN.

Las medidas potenciométricas se realizaron depositando la disolución patrón sobre los electrodos. Esto sólo permite obtener los datos de potencial de forma discreta, por lo que no se obtienen curvas de variación de potencial en función del tiempo de tipo exponencial. Se prepararon disoluciones patrón individuales de cada analito, en concentraciones comprendidas entre  $3.16 \times 10^{-8}$  y  $3.16 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>.

En la figura 4.52 se comparan las curvas de calibrado obtenidas con los sensores serigrafados con material polimérico modificado para cada uno de los analitos. Los intervalos lineales de estas respuestas y sus pendientes, se reflejan en la tabla 4.18.



**Figura 4.52.** Representación del potencial en función de la concentración de analito en la disolución de medida. (•) SP-DPCI para el análisis cromo (VI) y (•) SP-DHPE para el análisis de cromo (III).

Lo primero que llama la atención al observar la figura 4.52 es la gran diferencia que existe en cuanto al intervalo de concentraciones al que es sensible cada uno de los sensores desarrollados. El sensor SP-DPCI responde a concentraciones de cromo (VI) tan bajas como  $3.16 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , mientras que el sensor SP-DHPE sólo responde a concentraciones de cromo (III) unas cien veces superiores. La sensibilidad que presenta el SCPE con material polimérico modificado con DPCI es de  $61.4 \text{ mV decada}^{-1}$  frente a los  $17.1 \text{ mV decada}^{-1}$  del modificado con DHPE. Estas sensibilidades son similares a las observadas para los electrodos convencionales que contienen mismo modificador. En la tabla 4.18 se incluyen también los límites de detección obtenidos para los sensores serigrafados. Su cálculo se ha llevado a cabo de idéntica manera al empleado para los electrodos convencionales, determinando la concentración del analito en el punto de intersección entre la parte lineal extrapolada de la curva de calibrado con la parte de respuesta plana.

**Tabla 4.18.** Características de la respuesta potenciométrica y límites de detección.

Tipo de sensor	Modificador	Ión primario	Intervalo de respuesta lineal, log $C_{Cr}$ , mol L <sup>-1</sup>	Pendiente, mV década <sup>-1</sup>	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>
PC	DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -2.00	56.2	$9.14 \times 10^{-7}$
	DHPE	Cr(III)	-6.00 a -3.00	20.5	$6.92 \times 10^{-7}$
MP	DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -3.00	59.7	$6.17 \times 10^{-7}$
	DHPE	Cr(III)	-5.00 a -2.50	18.8	$1.25 \times 10^{-5}$
SP	DPCI	Cr(VI)	-6.50 a -4.00	61.4	$2.12 \times 10^{-7}$
	DHPE	Cr(III)	-5.00 A -3.00	17.1	$1.32 \times 10^{-5}$

Como se observa en la tabla 4.18, el sensor SP-DHPE presenta similares parámetros analíticos que el electrodo de material polimérico modificado convencional (MP-DHPE). En el caso del sensor SP-DPCI construido para detectar cromo (VI), el límite de detección alcanzado,  $2.12 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, es menor que el obtenido con el sensor construido sobre un soporte convencional (MP-DPCI),  $6.17 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> y mejor que el obtenido por el sensor PC-DPCI

#### 4.3.2.4 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES.

Como para cualquier sensor potenciométrico, es necesario determinar la selectividad al ión principal. De acuerdo a los resultados obtenidos para los electrodos convencionales, sólo se ensayaron los iones que presentan coeficientes de selectividad mayores que  $1.00 \times 10^{-4}$ , como son Hg (II), Cu (II), Pb (II), Fe (III) y Al (III). Los coeficientes de selectividad se calculan mediante los métodos MPM y FPM. Conjuntamente a la interferencia de los cationes, también se estudió la posible interferencia de aniones como cloruro o sulfato.

En cuanto a la selectividad de la respuesta frente a los cationes ensayados, no se observa interferencia por estos iones para el sensor modificado con DPCI obteniéndose coeficientes de selectividad inferiores a  $1.00 \times 10^{-4}$ . Los valores de los coeficientes de selectividad obtenidos para el sensor SP-DHPE se reflejan en la tabla 4.19. Los resultados obtenidos son similares a los observados para los sensores equivalentes poliméricos convencionales, lo que hace suponer que el menor grado de

interferencia de los electrodos con membrana polimérica frente a los de pasta de carbón se deba a las propias características del material de membrana, siendo independiente de la geometría del sensor.

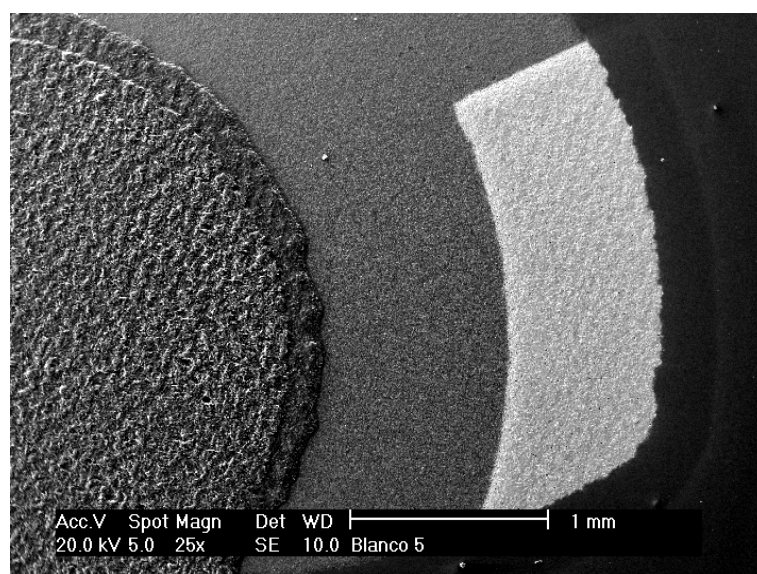
**Tabla 4.19.** Coeficientes de selectividad calculados para los diferentes sensores modificados con DHPE según MPM y FPM. Concentración inicial de Cr(III)  $1.00 \times 10^{-5}$  M.

Ión interferente	TIPO DE ELECTRODO					
	CONVENCIONAL		CONVENCIONAL		SERIGRAFIADO	
	PASTA DE CARBÓN		MATERIAL POLIMERICO		MATERIAL POLIMÉRICO	
	$\log K^{\text{MPM}}_{\text{Cr, M}}$	$\log K^{\text{FPM}}_{\text{Cr, M}}$	$\log K^{\text{MPM}}_{\text{Cr, M}}$	$\log K^{\text{FPM}}_{\text{Cr, M}}$	$\log K^{\text{MPM}}_{\text{Cr, M}}$	$\log K^{\text{FPM}}_{\text{Cr, M}}$
Hg <sup>2+</sup>	-0.640	1.600	-2.680	-1.863	-2.168	-1.369
Pb <sup>2+</sup>	< -4	-1.350	< -4	< -4	< -4	< -4
Fe <sup>3+</sup>	-0.050	0.610	-1.455	-0.985	-1.325	-0.560
Al <sup>3+</sup>	-1.050	-0.250	< -4	< -4	< -4	< -4
Cu <sup>2+</sup>	< -4	-1.870	< -4	< -4	< -4	< -4

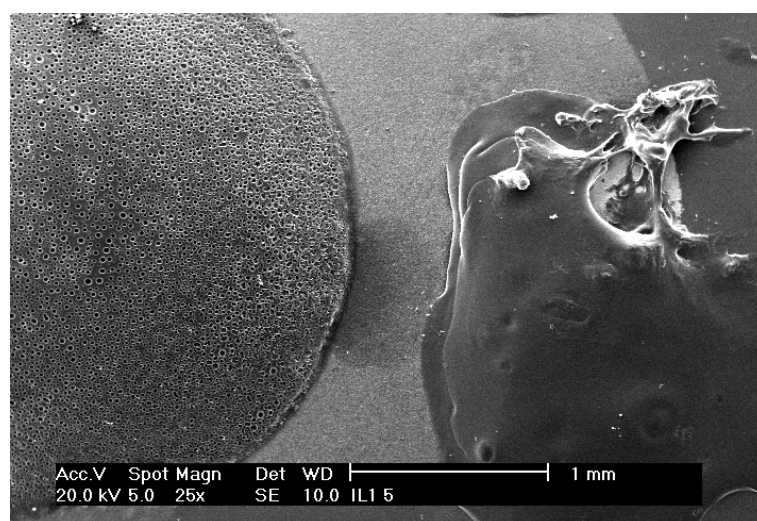
En cuanto a la interferencia de los aniones de los sensores SP-DPCI y SP-DHPE, no se observó interferencia de sulfato. Sin embargo si se observó interferencia debida al cloruro, a concentraciones del ión superiores a  $1.00 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Esto se debe a la interacción del cloruro con el electrodo de plata de pseudo-referencia que contiene el propio electrodo serigrafiado.

Para eliminar esta interferencia se debe evitar, en la medida de lo posible, el contacto directo del electrodo de referencia de plata con la disolución. En la bibliografía hay intentos por resolver este problema, consiguiendo buenos resultados recubriendo el electrodo de plata con una membrana de PVC [Maminska y col., 2006]. Incluyendo un intercambiador iónico en esta membrana, podemos alcanzar una buena conductividad minimizando la influencia de los iones cloruro en la medida

de los potenciales. Por tanto, para resolver la interferencia de los cloruros se depositaron, sobre el electrodo serigrafiado de plata, 2  $\mu\text{L}$  de una membrana que contenía un 66% de PVC en polvo, 33% de endurecedor y un 1% de tetrakis(4-clorofenil)borato de potasio como componente conductor. El material se deja curar durante 24 horas antes de realizar las medidas. Una microfotografía de la superficie del electrodo de plata sin recubrir y recubierto por la membrana puede verse en la figuras 4.53 y 4.54.



**Figura 4.53.** Imagen SEM de un electrodo serigrafiado de carbón sin modificar.



**Figura 4.54.** Imagen SEM de un electrodo serigrafiado de carbón con material polimérico sobre el electrodo de trabajo (izquierda) y con membrana de PVC sobre el referencia (derecha).



Una vez recubierto el electrodo de referencia con la membrana de PVC no se observa interferencia de la respuesta de los sensores SP-DPCI y SP-DHPE debida a la presencia de iones cloruro en la disolución.

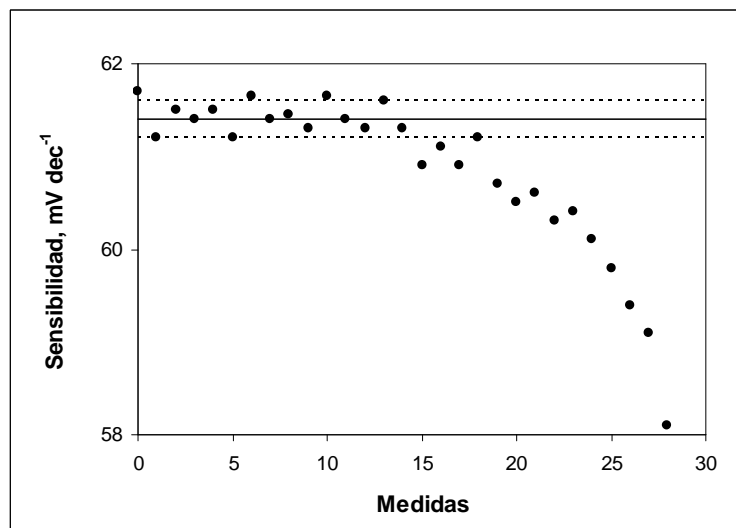
#### 4.3.2.5 ESTABILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DE LA SEÑAL POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES.

Para evaluar la precisión de las medidas y la estabilidad con el tiempo de los sensores serigrafiados con material polimérico modificado, se llevaron a cabo estudios de la reproducibilidad de la medida de potenciales en el mismo día y en días sucesivos. La diferencia principal entre este tipo de sensores y los descritos de tipo convencional es que la superficie de los electrodos serigrafiados no es renovable. Esto implica que ante una pérdida apreciable de exactitud y de reproducibilidad en la señal potenciométrica, el sensor se sustituirá por otro.

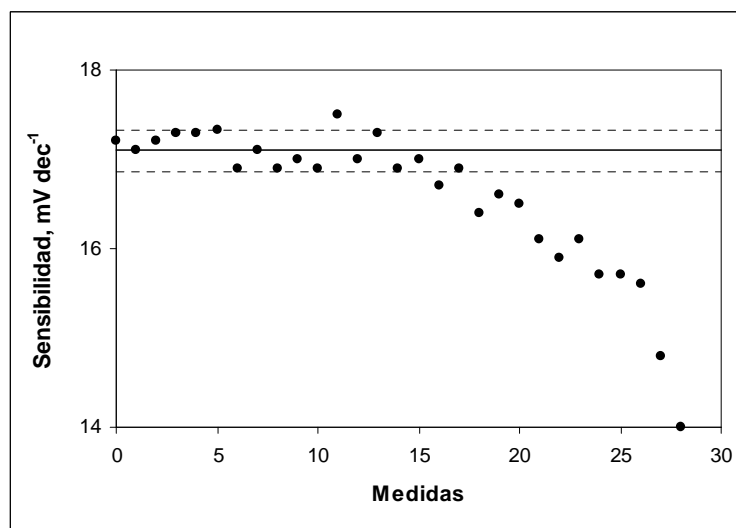
Para un determinado sensor, las variaciones en el potencial medido de patrones que abarcan el intervalo de respuesta potenciométrica son del orden de  $\pm 0.5$  mV, tanto para el sensor SP-DPCI como para el sensor SP-DHPE. La imprecisión observada es, por tanto, inferior a las observadas para los sensores de forma tubular que eran del orden de  $\pm 1$  mV. Al realizar este mismo estudio con diferentes sensores de idéntica composición y comparando, en este caso, la sensibilidad obtenida con cada uno de ellos, dichas variaciones aumentan hasta  $\pm 1$  mV. Este último dato es la imprecisión que caracteriza a este tipo de sensores serigrafiados, puesto que una vez acabada la vida útil han de sustituirse por otros.

Para hacer una estimación de ese tiempo de vida de los sensores desarrollados y comprobar la imprecisión en condiciones de máxima reproducibilidad, se evaluó la variación de la sensibilidad obtenida con el mismo sensor con el tiempo mediante la realización de calibrados sucesivos. La metodología es la misma que se siguió con los electrodos convencionales. La variación de la sensibilidad a lo largo del tiempo para, aproximadamente, 30 calibrados se refleja en las figuras 4.55 y 4.56 para los sensores SP-DPCI y SP-DHPE, respectivamente. En los gráficos, la línea continua representa el valor medio de la pendiente obtenida para 15 calibrados

sucesivos mientras que las líneas discontinuas representan los intervalos de confianza para un nivel de significancia del 90 %.



**Figura 4.55.** Estabilidad de la respuesta potenciométrica al Cr(VI) del sensor SP-DPCI.



**Figura 4.56.** Estabilidad de la respuesta potenciométrica al Cr(III) del sensor SP-DHPE.

A la vista del resultado del estudio sobre la estabilidad de los sensores se puede comprobar que durante 15 medidas consecutivas se consigue reproducibilidad en la

respuesta potenciométrica para ambos sensores. A partir de entonces las pendientes empiezan a disminuir y es recomendable sustituir por los otros dispositivos construidos en las mismas condiciones para asegurar la reproducibilidad.

#### 4.3.3 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS SENSORES SERIGRAFIADOS MODIFICADOS: MEDIDAS EN FLUJO.

Al igual que para los sensores de pasta de carbón modificado, el objetivo de este apartado es el estudio de la capacidad de los sensores serigrafiados modificados para realizar medidas en flujo. De esta forma se podrá llevar a cabo el análisis potenciométrico por inyección en flujo (FIP) de una manera sencilla con electrodos cuya matriz es el material polimérico modificado.

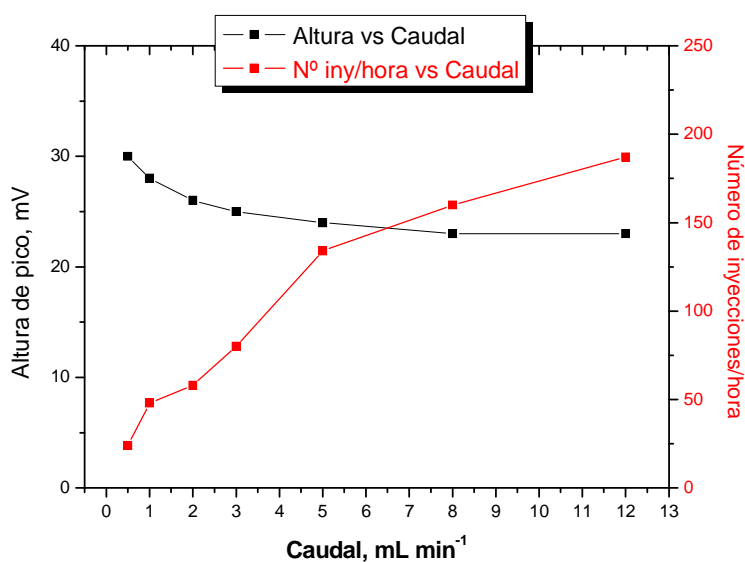
En este estudio se utiliza una célula de flujo diseñada expresamente para trabajar con electrodos serigrafiados. Nuevamente, previo a la optimización de los parámetros de flujo, se fijan algunas de las condiciones de medida basándonos en las optimizadas en el sistema de medida en estático, como son el electrolito soporte ( $\text{NaNO}_3$  0.10 mol  $\text{L}^{-1}$  a pH de 3) y la composición del material polimérico (12.5 % de modificador, 37.5% de polvo de grafito y 50% de resina epoxi). Para minimizar el efecto de los interferentes en la medida se recubre el electrodo de pseudo-referencia con una membrana de PVC, procedimiento descrito en el desarrollo de este tipo de sensores para medidas en estático. Las características de la conexión entre la válvula de inyección y la célula son las mismas condiciones empleadas en el sistema de flujo con electrodos convencionales (23 cm de longitud y 0.30 mm de diámetro interno).

En primer lugar se procedió a optimizar los parámetros característicos del FIP como el caudal del flujo y el volumen de muestra inyectado. Posteriormente se caracterizó la respuesta potenciométrica en estas condiciones de análisis así como la selectividad. Finalmente se comparan los resultados con los obtenidos para el sistema en estático con los electrodos serigrafiados.

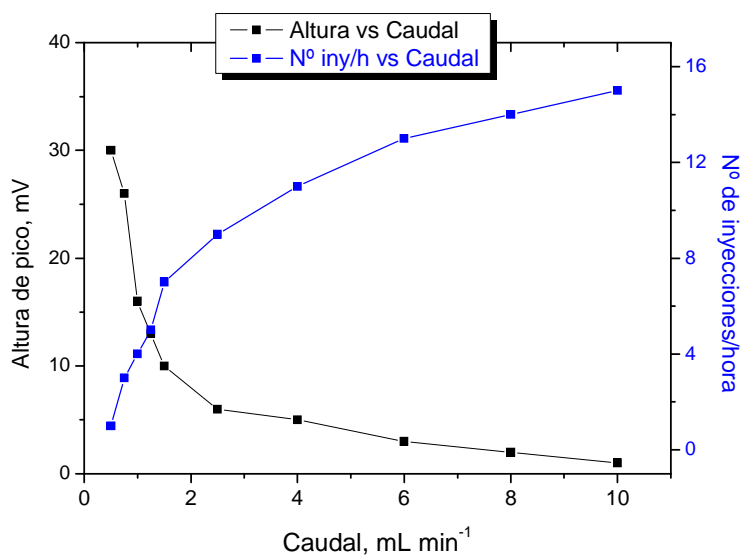
#### 4.3.3.1 OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE MEDIDA EN FLUJO.

Como en el caso de los electrodos de pasta de carbón modificados, se optimizaron el caudal de electrolito soporte y el volumen de inyección de muestra fijando uno de ellos y variando el otro. Se trata de obtener señales en forma de pico lo más intensas posibles y estrechas para conseguir la máxima sensibilidad con tiempos cortos de análisis. Las disoluciones patrón utilizadas en estos estudios contenían  $1.00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de cromo (III) y  $1.00 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de cromo (VI) para optimizar los sensores SP-DHPE y SP-DPCI respectivamente.

En cada una de las condiciones de medida, se mide la señal obtenida después de la inyección de un patrón (altura de pico) y se determina el número de inyecciones por hora a partir de la anchura de pico. Para la optimización del caudal del electrolito portador, se estudió la variación de dichos parámetros cuando el caudal varía entre 0.50 y 12 mL min<sup>-1</sup>, fijando el volumen de inyección en 500 µL. Los resultados obtenidos con el electrodo SP-DPCI y con el electrodo SP-DHPE se reflejan en las figuras 4.57 y 4.58.



**Figura 4.57.** Gráfica de optimización del caudal para el electrodo **SP-DPCI en el análisis de cromo (VI).**

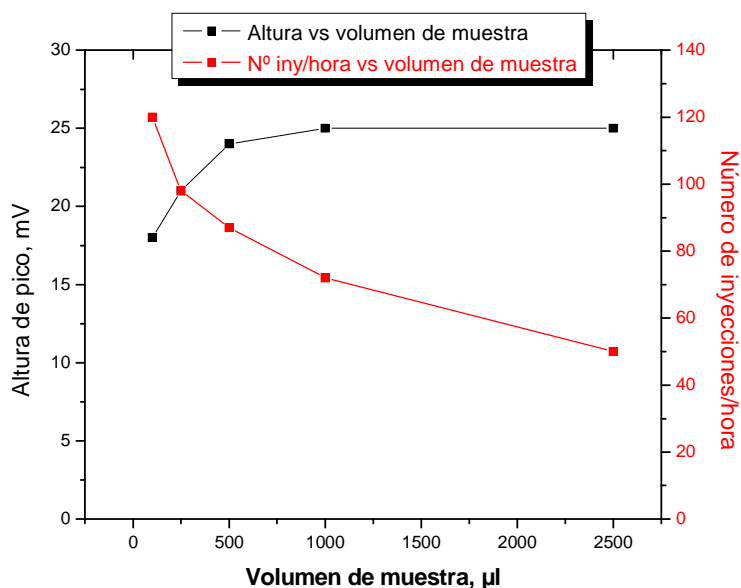


**Figura 4.58.** Gráfica de optimización del caudal para el electrodo **SP-DHPE en el análisis de cromo (III).**

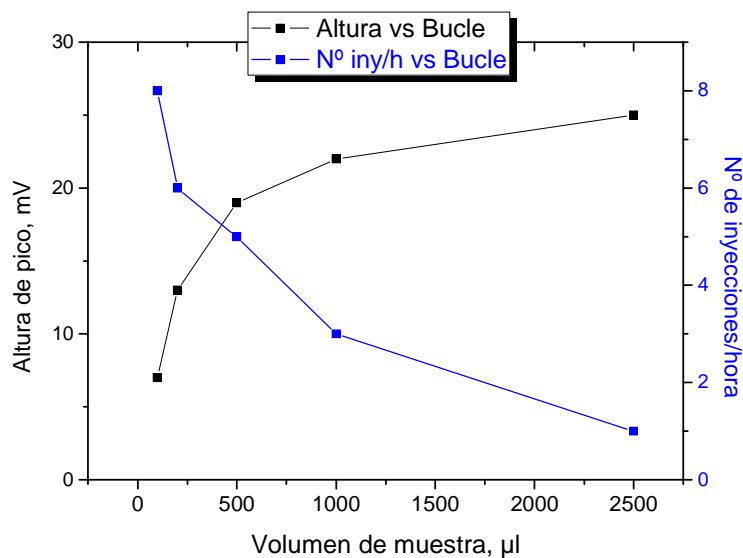
Al aumentar el caudal disminuye la altura de las señales y la anchura de pico obteniéndose peores límites de detección, pero mayores frecuencias de análisis. El número de inyecciones por hora que pueden realizarse con el sensor SP-DPCI son siempre mayores que las obtenidas con el sensor SP-DHPE. La disminución de la señal observada para el electrodo SP-DPCI es del orden del 22% a caudales superiores a 10 mL min<sup>-1</sup> (figura 4.57), pero es cercana al 100% para el sensor SP-DHPE (figura 4.58). Los caudales de compromiso seleccionados fueron 2.0 mL min<sup>-1</sup> para el sensor SP-DPCI y un caudal algo menor, 1.5 mL min<sup>-1</sup> para el electrodo SP-DHPE, elegido para evitar una elevada pérdida de señal, aunque la frecuencia de medida sea menor.

Para poder establecer el volumen de muestra óptimo, se midió la variación de los mismos parámetros (altura de pico y frecuencia de muestreo) con el cambio del volumen de muestra. El volumen se varió entre 100 µL y 2.0 mL, llevando a cabo la medida a las velocidades de flujo anteriormente indicadas. Los resultados se muestran en las figuras 4.59 y 4.60 para los electrodos SP-DPCI y SP-DHPE, respectivamente. A diferencia del estudio del caudal, con el incremento del volumen de muestra inyectada se observa un comportamiento contrario. Así, al aumentar el volumen de muestra inyectada se observan picos más intensos pero más anchos, lo que reduce el número de inyecciones por hora que podrían realizarse (figura 4.57).

Volúmenes más grandes no aumentan significativamente la señal, pero reducen mucho la frecuencia de muestreo.



**Figura 4.59.** Gráfica de optimización del volumen de muestra para el electrodo **SP-DPCI en el análisis de cromo (VI).**



**Figura 4.60.** Gráfica de optimización del volumen de muestra para el electrodo **SP-DHPE en el análisis de cromo (III).**

Los parámetros seleccionados para llevar a cabo las medidas potenciométricas con estos sensores mediante sistema de análisis en flujo se resumen en la tabla 4.20. En dicha tabla también se refleja la frecuencia de muestreo obtenida en estas condiciones.

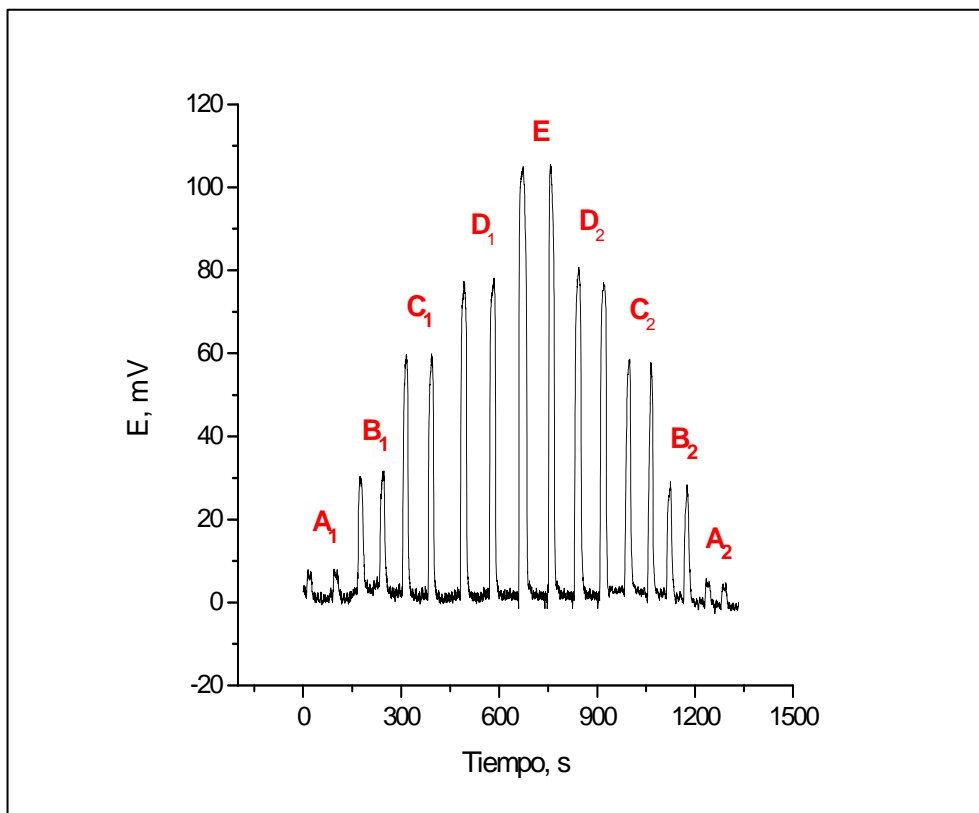
**Tabla 4.20.** Parámetros seleccionados para la medida en flujo con los electrodos serigrafados con material polimérico modificado.

Analito	Sensor	Caudal, mL min <sup>-1</sup>	Volumen de muestra inyectado, µl	Frecuencia de análisis (inyecciones h <sup>-1</sup> )
Cr (VI)	SP-DPCI	2.0	500	70
Cr (III)	SP-DHPE	1.5	500	5

#### 4.3.3.2. CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA PARA EL ANÁLISIS EN FLUJO.

Una vez fueron determinadas las condiciones más adecuadas para la medida en flujo, se procedió a caracterizar la respuesta en FIP de los sensores desarrollados para cada analito. Para ello se prepararon disoluciones de cromo (VI) y cromo (III) en electrolito soporte desde concentraciones  $1.00 \times 10^{-8}$  hasta  $0.100 \text{ mol L}^{-1}$ . Se inyectaron 500 µL de estas disoluciones en el sistema, primero aumentando la concentración de analito y posteriormente disminuyéndola, para estudiar la reversibilidad de la medida.

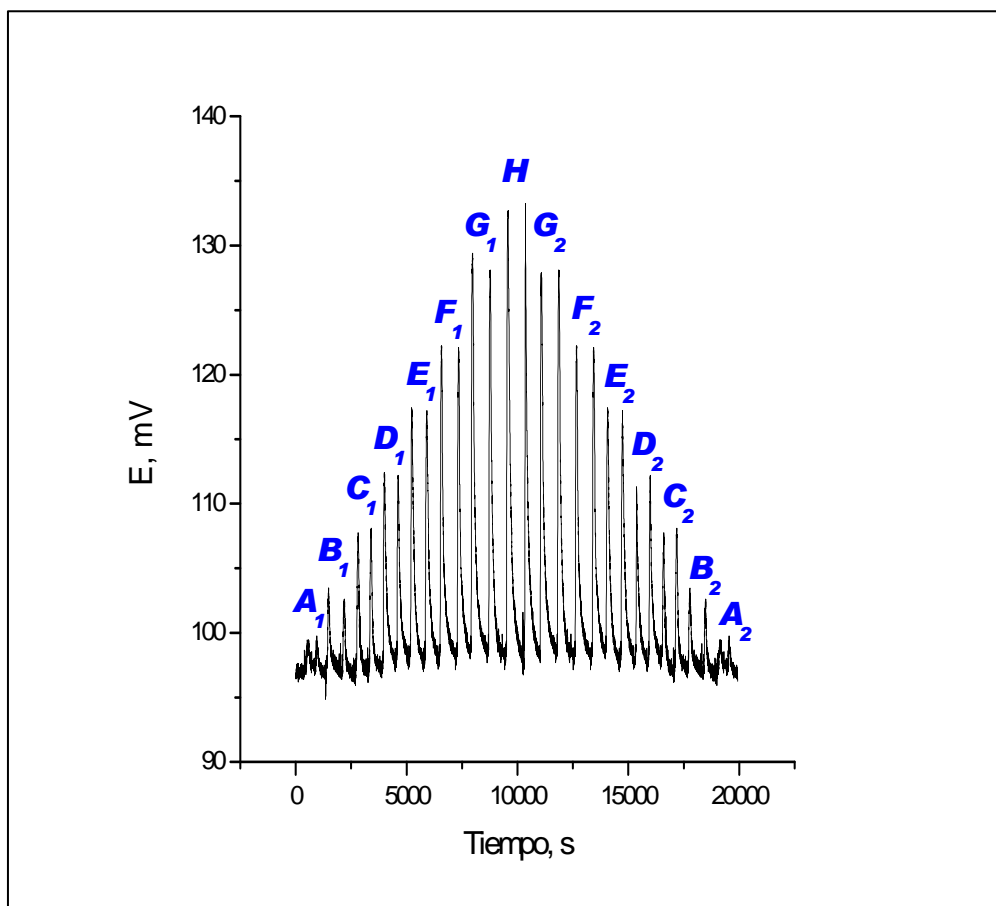
Los *fiagramas* correspondientes a la detección de cromo (VI) con el sensor SP-DPCI y a la de cromo (III) con el sensor SP-DHPE, se reflejan en las figuras 4.61 y 4.62, respectivamente.



**Figura 4.61.** Señales potenciométricas obtenidas con el sensor de **DPCI** de dos inyecciones repetidas de disoluciones de **Cr (VI)** de concentración (en mol L<sup>-1</sup>):  $1.00 \times 10^{-6}$  (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-6}$  (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-5}$  (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-5}$  (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-4}$  (E) Condiciones: 2.0 mL min<sup>-1</sup>; 500 µl volumen de inyección; disolución portadora NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup>, pH 3.

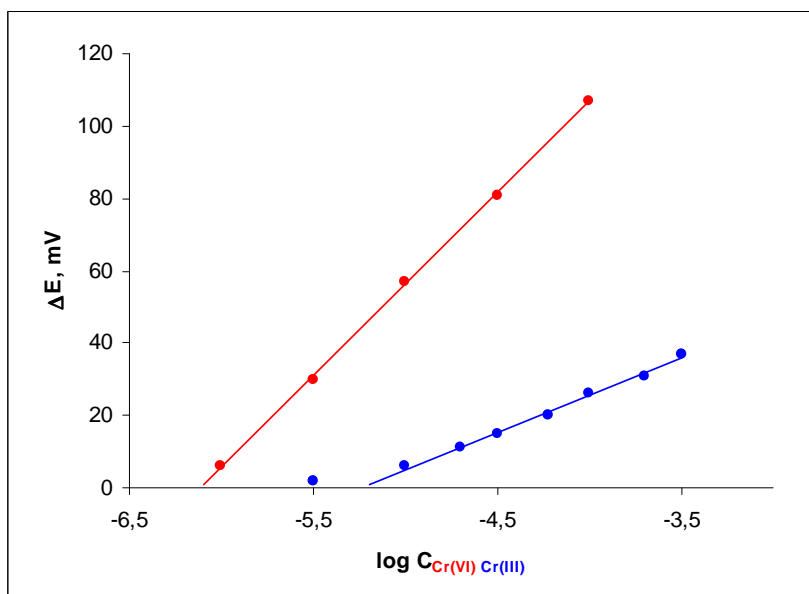
En las figuras se puede comprobar que la repetitividad y la reversibilidad de la medida son muy buenas. Las imprecisiones obtenidas con el sistema son inferiores a  $\pm 1$  mV en el intervalo de concentraciones de analito investigado.





**Figura 4.62.** Señales potenciométricas obtenidas con el sensor de **DHPE** de dos inyecciones repetidas de disoluciones de **Cr (III)** de concentración (en mol L<sup>-1</sup>):  $3.16 \times 10^{-6}$  ( $A_1, A_2$ );  $1.00 \times 10^{-5}$  ( $B_1, B_2$ );  $2.00 \times 10^{-5}$  ( $C_1, C_2$ );  $3.16 \times 10^{-5}$  ( $D_1, D_2$ );  $6.00 \times 10^{-5}$  ( $E_1, E_2$ );  $1.00 \times 10^{-4}$  ( $F_1, F_2$ );  $2.00 \times 10^{-4}$  ( $G_1, G_2$ );  $3.16 \times 10^{-4}$  ( $H$ ). Condiciones: 1.5 mL min<sup>-1</sup>; 500  $\mu$ l volumen de inyección; disolución portadora NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup>, pH 3.

Las curvas de calibrado obtenidas a partir de estos datos se pueden observar en la figura 4.63.



**Figura 4.63.** Curva de calibrado correspondiente a los sensores **SP-DPCI** y **SP-DHPE** en función del logaritmo de la concentración de **Cr(VI)** y **Cr(III)** respectivamente. Las rectas representan el ajuste lineal por mínimos cuadrados para el analito correspondiente.

En la tabla 4.21 se comparan las características de la respuesta potenciométrica en flujo que se han obtenido para estos sensores con la respuesta de los sensores de pasta de carbón antes descritos. Para establecer el límite de detección en cada caso se empleó la metodología correspondiente a las medidas en continuo ya descrita para el sistema de análisis en continuo con electrodos de pasta de carbón. El ruido de la medida corresponde a la oscilación del valor del potencial cuando circula disolución portadora por el circuito. El límite de detección se determina como la concentración que da una señal que es 3.3 veces superior al ruido de fondo.

**Tabla 4.21.** Características de la respuesta potenciométrica de los sensores para el sistema de análisis en continuo.

Analito	Electrodo	Intervalo de respuesta lineal, log C <sub>Cr</sub> , mol L <sup>-1</sup>	Pendiente, mV década <sup>-1</sup>	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>
Cr(VI)	PC-DPCI	-5.5 a -2.5	59.1	1.80x10 <sup>-6</sup>
	SP-DPCI	-6.0 a -4.0	50.5	9.42x10 <sup>-7</sup>
Cr(III)	PC-DHPE	-5.5 a -1.5	17.7	2.69x10 <sup>-6</sup>
	SP-DHPE	-5.0 a -3.5	20.5	8.62x10 <sup>-6</sup>

En la tabla puede observarse que existen diferencias para los sensores modificados con DPCI cuando la membrana está basada en pasta de carbón con respecto al sensor basado en material polimérico y tecnología *screen printed*. Por una parte se obtiene una disminución de la sensibilidad de la medida, que en pasta de carbón era de 59.1 mV decada<sup>-1</sup>, hasta los 50.5 mV decada<sup>-1</sup> cuando la matriz del electrodo es de material polimérico. Sin embargo se obtienen límites de detección similares. Por otra parte, el intervalo de respuesta lineal del sensor SP-DPCI se reduce en un orden de magnitud, perdiéndose la linealidad a concentraciones más bajas.

En el caso de los dos sensores para cromo (III), el límite de detección del sensor PC-DHPE es ligeramente mejor que el del sensor SP-DHPE. El intervalo de respuesta lineal también se ha visto considerablemente disminuido para el sensor serigrafiado modificado con el material polimérico, abarcando sólo una década y media de concentraciones, frente a las cuatro décadas obtenidas para el sensor con pasta de carbón. En cambio, la sensibilidad es algo mayor para el sensor SP-DHPE, 20.5 mV decada<sup>-1</sup>, que la obtenida para el sensor PC-DHPE, 17.7 mV decada<sup>-1</sup>.

En general se puede comprobar, a partir de los resultados reflejados en la tabla, que el sensor SP-DPCI para cromo (VI) mantiene o mejora las prestaciones ofrecidas por el sensor PC-DPCI. Por contra, las características del sensor de tecnología *screen printed* para cromo (III) son peores que las obtenidas para el electrodo de pasta de carbón modificada.

#### 4.3.3.3 SELECTIVIDAD DE LOS SENSORES EN UN SISTEMA EN FLUJO.

Es de esperar que, con el sistema de flujo, los sensores basados en metodologías *screen printed* presenten una mejor selectividad que cuando se emplean en estático. En este apartado se estudia la interferencia de distintos iones en la determinación de cromo mediante los sistemas en flujo. El método de cálculo para los coeficientes de selectividad fue el FPM.

Como sucediera con el sistema de medida en estático, para el sensor de material polimérico modificado con DPCI se observó que ninguno de los iones investigados daba lugar a interferencias cuando se emplea la membrana de PVC

para proteger el electrodo de referencia de plata. En todos los casos se obtienen coeficientes de selectividad inferiores a  $1.00 \times 10^{-4}$ .

Los coeficientes de selectividad obtenidos para el sensor SP-DHPE en las medidas en continuo (tabla 4.22) disminuyen considerablemente cuando se comparan con los valores obtenidos en las medidas en estático (tabla 4.19). Además, en la tabla 4.22 se comparan algunos de los coeficientes de selectividad obtenidos por los sensores PC-DHPE y SP-DHPE en las medidas en flujo.

Puede observarse en la tabla que los coeficientes de selectividad obtenidos para el sensor SP-DHPE en flujo son inferiores a los obtenidos previamente con el sensor PC-DHPE. A la vista de los resultados se puede afirmar que este material da lugar a un sensor más robusto debido a que los coeficientes de selectividad muestran una clara disminución en su magnitud.

**Tabla 4.22.** Comparación de coeficientes de selectividad, como  $\log K_{Cr, M}^{FPM}$  en sistema FIP para los sensores desarrollados para el análisis de cromo (III).

Ión interferente	TIPO DE ELECTRODO	
	PC-DHPE	SP-DHPE
$Hg^{2+}$	-1.383	-3.421
$Fe^{3+}$	-1.652	-2.305
$Al^{3+}$	-1.241	< -4

#### 4.4 DISEÑO DE UN SENSOR DUAL BASADO EN UN BISENSOR SERIGRAFIADO.

La buena respuesta que han demostrado los dos sensores serigrafados diseñados para la medida de cromo (VI) y cromo (III) nos llevó a preparar un sensor dual basado en un bisensor comercial, para la medida conjunta de ambas especies en muestras ambientales. El objetivo de este apartado será la preparación y caracterización de dicho sensor para su utilización en la medida simultánea de ambas especies tanto en discontinuo como en flujo.

Para la construcción del sensor dual se modificó la superficie de carbón de los electrodos serigrafados modelo DRP-C 1110 suministrados por Dropsens, cuyas características se han indicado en el apartado 3.1.2 de la parte experimental. Para conseguir la adecuada medida de los potenciales, el electrodo de referencia de plata se recubrió con una membrana de PVC como la descrita para los electrodos SP-DPCI y SP-DHPE.

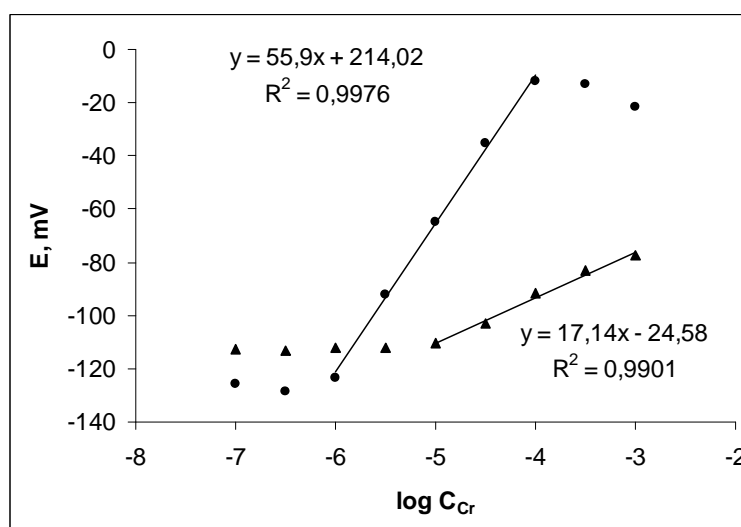
Para la construcción del sensor dual se ha empleado la misma composición de membrana que la empleada en los sensores serigrafados individuales. Por tanto, se han empleado membranas rígidas basadas en resina EPOFIX<sup>®</sup> que contienen un 50% de polímero, un 13% de modificador y un 37 % de polvo de grafito.

Las condiciones de medida fueron las optimizadas en apartados anteriores para la medida de los iones. Por tanto se utilizó como electrolito soporte  $\text{NaNO}_3$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  ajustado a pH 3 con ácido nítrico.

##### 4.4.1 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DEL SENSOR DUAL: MEDIDA EN DISCONTINUO.

En primer lugar se estudió la respuesta del sensor de manera discontinua. La medida se realizó depositando  $200 \mu\text{L}$  de la disolución a medir, de manera que cubra los dos electrodos sensores y el electrodo de referencia. Inicialmente, una vez activadas las dos membranas, se coloca disolución de electrolito soporte y se deja que se estabilicen los potenciales. Una vez estabilizados, se sustituye la disolución de electrolito por disolución de muestra y se deja estabilizar el potencial antes de realizar la medida de potenciales.

Para caracterizar adecuadamente la respuesta del sensor dual, en primer lugar se midieron patrones individuales de los dos iones bajo estudio, registrando sólo el potencial del electrodo que es sensible al ión. En la figura 4.64 se representa el valor de potencial obtenido para cada sensor en función de la concentración del ión en disolución al que es sensible. Los intervalos lineales observados y las sensibilidades calculadas para dichos intervalos se reflejan en la tabla 4.23. Puede observarse en dicha tabla que las respuestas obtenidas para los dos sensores son similares a las obtenidas para los electrodos individuales (ver tabla 4.21).

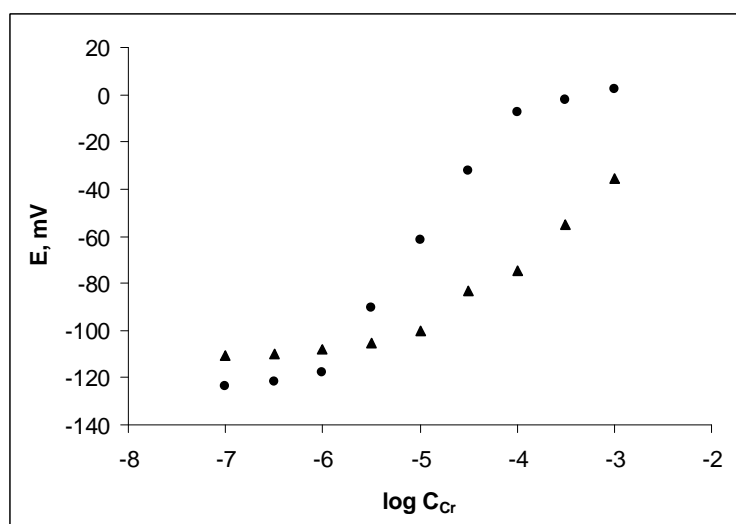


**Figura 4.64.** Representación del potencial en función de las concentraciones de analito para disoluciones independientes de cada ión: SD-DPCI (●) y SD-DHPE (▲).

**Tabla 4.23.** Características de las rectas de calibrado y límites de detección.

Ensayo	Electrodo de trabajo del bisensor	Ión primario	Intervalo de respuesta lineal, $\log C_{Cr}$ , mol L <sup>-1</sup>	Pendiente, mV década <sup>-1</sup>
Medida de patrones independientes	SD-DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -4.00	55.9
	SD-DHPE	Cr(III)	-5.00 a -3.00	17.1
Medida de patrones de igual concentración	SD-DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -4.00	56.7
	SD-DHPE	Cr(III)	-5.00 a -3.00	32.7
Medida de patrones con concentración fija de una especie	SD-DPCI	Cr(VI)	-6.00 a -4.00	55.4
	SD-DHPE	Cr(III)	-5.50 a -3.00	18.6

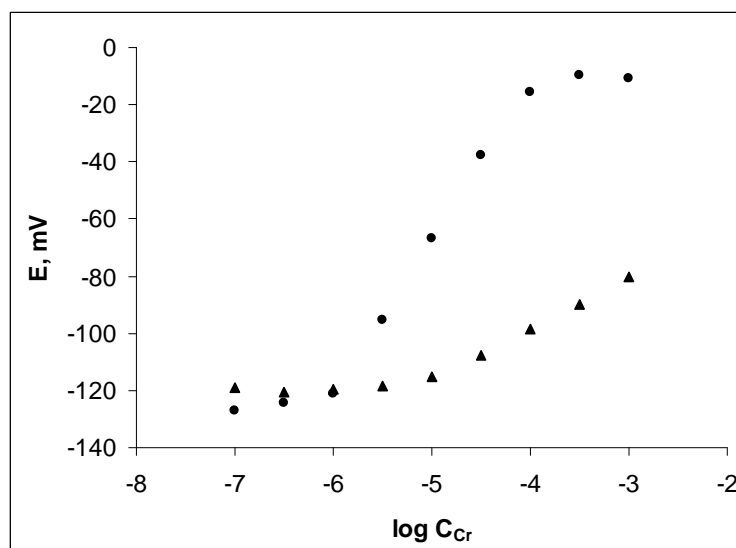
Para comprobar el efecto que sobre la medida de un determinado ión tiene la presencia de la otra especie de cromo, se realizaron dos tipos de experimentos en los que se analizaron mezclas de ambas especies. En el primero, se prepararon curvas de calibrado con patrones que contenían la misma concentración de cromo (III) y cromo (VI), depositando 200  $\mu\text{L}$  de las mezclas sobre el electrodo y midiendo el potencial de ambos electrodos. En la figura 4.65 se observa la variación del potencial medido en cada sensor frente a la concentración de las especies. Las características de la respuestas potenciométricas también se reflejan en la tabla 4.23. Puede observarse que mientras la respuesta del cromo (VI) es igual a la observada para las disoluciones individuales, la sensibilidad observada para el cromo (III) es ligeramente, pero significativamente, superior a la obtenida para los patrones individuales. Este resultado indica un cierto grado de interferencia del cromato en la respuesta del sensor para cromo (III).



**Figura 4.65.** Representación del potencial en función de las concentraciones de analito para disoluciones que contienen la misma concentración de ambas especies: SD-DPCI (●) y SD-DHPE (▲).

En el segundo estudio, se llevó a cabo un calibrado para cada ión en presencia de una concentración constante de la otra especie. Por un lado se hizo un calibrado de cromo (VI) en presencia de una concentración constante de cromo (III) de  $1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , y por otro lado se evaluó la respuesta del sensor de cromo (III) en presencia de una concentración de cromo (VI) de  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Las respuestas potenciométricas obtenidas se presentan en la figura 4.66 de manera conjunta y en la tabla 4.23 los

datos de intervalo lineal y sensibilidad calculados. Vuelve a observarse que la respuesta de cromo (VI) no está afectada por el ión cromo (III) obteniéndose potenciales iguales que en los dos calibrados anteriores. Tampoco en el caso del cromo (III) se observa cambios en el potencial frente a las disoluciones individuales. Este resultado indica que concentraciones de cromo hexavalente inferiores a  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  no van a afectar a la respuesta del sensor desarrollado para el cromo (III).



**Figura 4.66.** Respuesta potenciométrica del bisensor a cromo (VI) en presencia de  $1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de cromo (III) y a cromo (III) en presencia de  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de cromo (VI): SD-DPCI (●) y SD-DHPE (▲).

De los resultados obtenidos puede concluirse que, tal como se ha observado para electrodos monoelementales, el cromo (III) no afecta a la medida de cromo (VI). Sin embargo, el ión cromo (VI) sí afecta la medida del cromo (III) cuando su concentración es igual o superior a la de éste último. Este resultado debe tenerse en cuenta cuando se realice la medida simultánea de los dos iones en mezclas.

Los límites de detección obtenidos para cada sensor al ión principal al que son sensibles son  $7.7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  y  $7.9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para cromo (VI) usando la membrana SD-DPCI y para cromo (III) usando la membrana SD-DHPE, respectivamente. Los límites de detección son iguales a los obtenidos para los sensores individuales.



#### 4.4.2 RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DEL SENSOR DUAL: MEDIDA EN FLUJO.

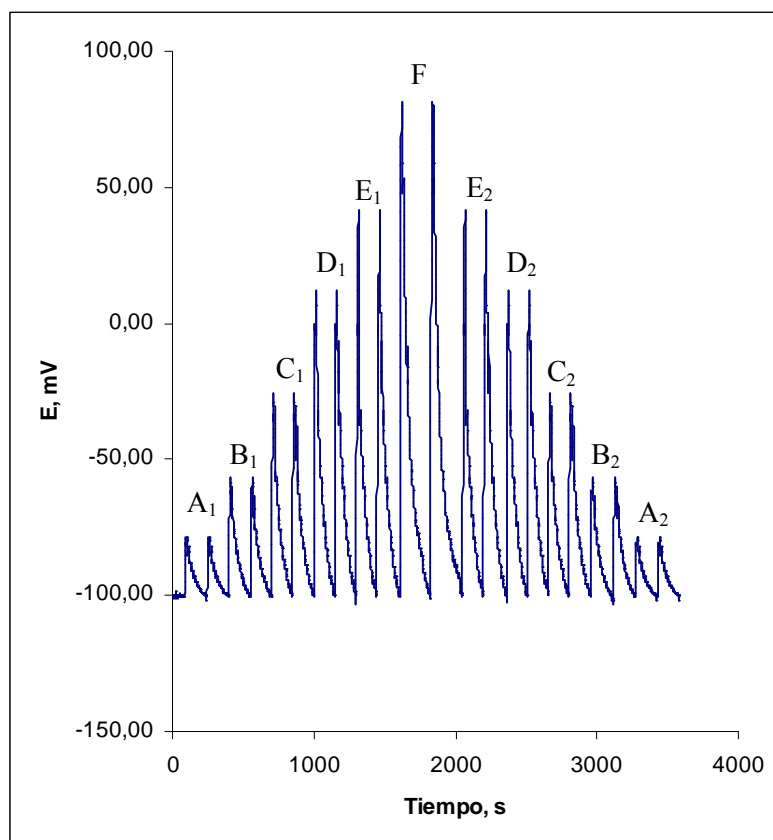
En este apartado se estudia la respuesta potenciométrica del sensor dual en modo FIP. En el estudio, el electrodo dual se insertó en la célula de flujo empleada para la medida en flujo de sensores serigrafiados monoelementales ya descrita. De nuevo, utilizaremos los parámetros optimizados en el sistema de medida en estático como son el electrolito soporte ( $\text{NaNO}_3$   $0.10 \text{ mol L}^{-1}$ , ajustado a pH de 3 con ácido nítrico) y las características del tubo de conexión entre la válvula de inyección y la célula de flujo (23 cm de longitud y 0.30 mm de diámetro interno)

Debido a que no se cambia la instrumentación frente a las medidas realizadas con electrodos monoelementales, se utilizaron los parámetros de medida en flujo obtenidos para los electrodos serigrafiados con un solo electrodo de trabajo como referencia para elegir los valores que emplearemos con el sensor dual (tabla 4.24). Como consecuencia, se utilizó un volumen de muestra de  $500 \mu\text{L}$  y un caudal de  $1.8 \text{ mL min}^{-1}$  como caudal de compromiso óptimo.

Los calibrados correspondientes a cada sensor se obtuvieron mediante la inyección de patrones individuales de cada analito. Los *fiagramas* correspondientes a cromo (VI) y cromo (III) se reflejan en las figuras 4.67 y 4.68, respectivamente. Puede observarse que la respuesta de ambos electrodos modificados es reversible, siendo los picos obtenidos para cromo (VI) más agudos que los obtenidos para cromo (III). Este comportamiento es consecuente con el observado para los sensores serigrafiados monoelementales.

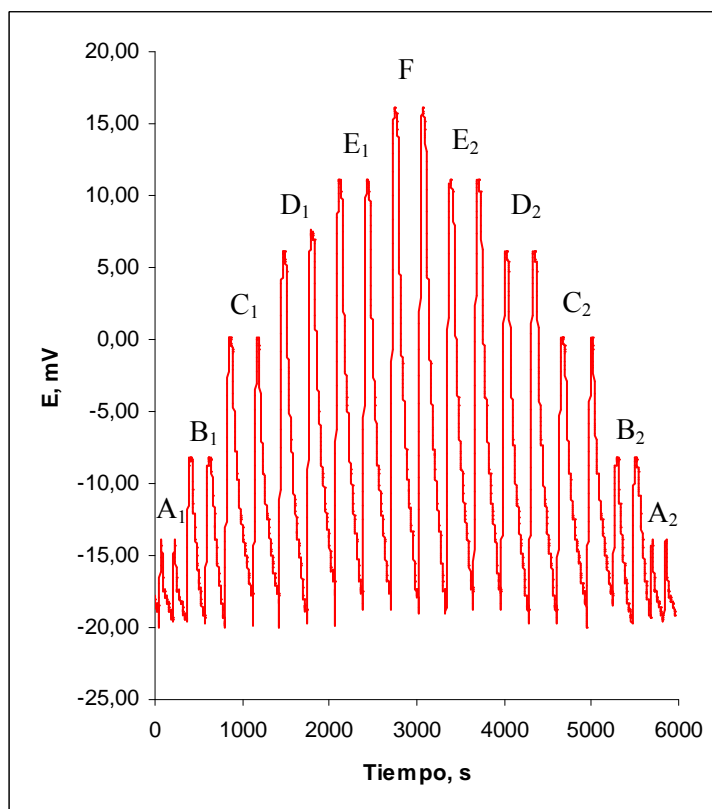
**Tabla 4.24.** Parámetros seleccionados para la medida en flujo con los electrodos serigrafiados con material polimérico modificado y para el bisensor.

Electrodo	Modificador	Caudal, $\text{mL min}^{-1}$	Volumen de muestra, $\mu\text{L}$	Frecuencia de análisis (inyecciones $\text{h}^{-1}$ )
Cr (VI)	DPCI	2.0	500	70
Cr (III)	DHPE	1.5	500	5
Bisensor	DPCI y DHPE	1.8	500	60 para Cr (VI) 10 para Cr (III)

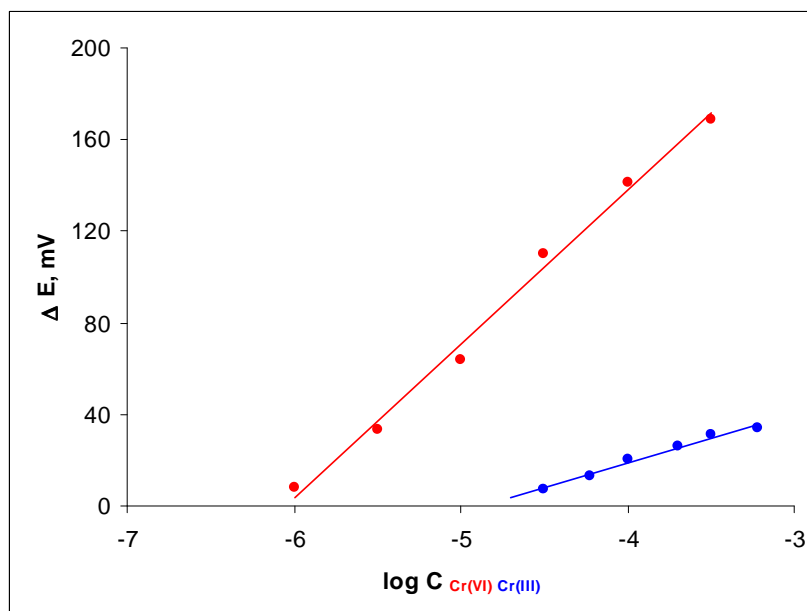


**Figura 4.67.** Señales potenciométricas obtenidas con el sensor dual de dos inyecciones repetidas de disoluciones de Cr (VI) de concentración (en mol L<sup>-1</sup>):  $1.00 \times 10^{-6}$  (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-6}$  (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-5}$  (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-5}$  (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-4}$  (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>) y  $3.16 \times 10^{-4}$  (F) mol L<sup>-1</sup>. Condiciones: 1.8 mL min<sup>-1</sup>; 500 µL volumen de inyección; disolución portadora NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup>, pH 3.

Las curvas de calibrado y los parámetros analíticos obtenidos para el sensor dual como respuesta potenciométrica en un sistema de medida en flujo para cada analito se presentan en la figura 4.69 y la tabla 4.25. Ambos sensores presentan respuestas ligeramente super-Nernstianas. El intervalo lineal para el sensor SD-DPCI es algo superior en la medida en flujo frente a la medida en estático. Sin embargo la membrana SD-DHPE del sensor dual presenta un intervalo lineal más corto, en un orden de magnitud, en medidas en flujo frente a las medidas en estático. En cuanto a los límites de detección, éstos son similares para ambos tipos de medidas en el electrodo SD-DPCI, mientras que para el sensor de cromo (III) el límite de detección es peor en medidas en flujo.



**Figura 4.68.** Señales potenciométricas obtenidas con el sensor dual de dos inyecciones repetidas de disoluciones de Cr (III) de concentración (en mol L<sup>-1</sup>):  $3.16 \times 10^{-5}$  (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>);  $6.00 \times 10^{-5}$  (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>);  $1.00 \times 10^{-4}$  (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>);  $2.00 \times 10^{-4}$  (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>);  $3.16 \times 10^{-4}$  (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>) y  $6.00 \times 10^{-4}$  (F) mol L<sup>-1</sup>. Condiciones: 1.8 mL min<sup>-1</sup>; 500 µl volumen de inyección; disolución portadora NaNO<sub>3</sub> 0.10 mol L<sup>-1</sup>, pH 3.



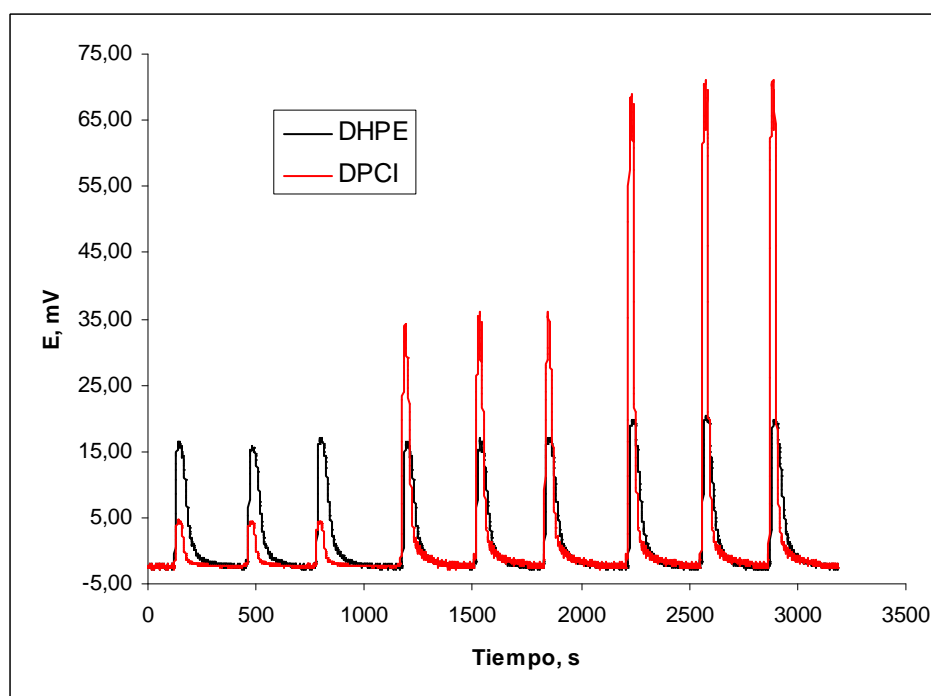
**Figura 4.69.** Curva de calibrado correspondiente a los sensores **SD-DPCI** y **SD-DHPE** de altura de pico en función del logaritmo de la concentración de **Cr(VI)** y **Cr(III)**. Las rectas representan el ajuste lineal por mínimos cuadrados para el analito correspondiente.

**Tabla 4.25.** Parámetros analíticos obtenidos con el sensor dual para el sistema de análisis en flujo.

Analito	Intervalo de respuesta lineal, $\log C_{Cr}$ , mol L <sup>-1</sup>	Pendiente, mV década <sup>-1</sup>	Límite de detección, mol L <sup>-1</sup>
Cr(VI)	-6.0 a -3.5	67.1	$8.98 \times 10^{-7}$
Cr(III)	-4.5 a -3.5	21.9	$1.20 \times 10^{-5}$

Al igual que en las medidas en estático, en flujo se estudió la respuesta conjunta del sensor dual a mezclas de las dos especies. Para ello se inyectaron en el sistema disoluciones que contenían una concentración fija de cromo (III) ( $1.00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) y cantidades variables de cromo (VI). Parte de esta respuesta se refleja en la figura 4.70.

Puede observarse en la figura 4.69 que, al aumentar la concentración de cromo (VI), se produce un incremento en la señal del electrodo para cromo (III) cuando la concentración del primero es unas diez veces inferior a la de cromo (III), lo que confirma la interferencia en la medida. Para estimar el grado de interferencia, se determinó la concentración de las especies de cromo en las mezclas a partir de las rectas de calibrado obtenidas mediante patrones individuales. Los resultados se reflejan en la tabla 4.26. La concentración de cromo (VI) obtenida es igual a la presente en las mezclas, mientras que las recuperaciones para cromo (III) son más elevadas que las esperadas, obteniendo un error del 13 % cuando la concentración de cromo (VI) es diez veces menor que la de cromo (III).



**Figura 4.70.** Diagramas obtenidos en el análisis de las siguientes mezclas: **A**,  $\text{Cr(VI)} = 1.00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$   $\text{Cr(III)} = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ; **B**,  $\text{Cr(VI)} = 3.16 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$   $\text{Cr(III)} = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ; **C**,  $\text{Cr(VI)} = 1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$   $\text{Cr(III)} = 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

**Tabla 4.26.** Concentraciones teóricas y obtenidas para ambos analitos en las mezclas preparadas mediante el análisis en flujo con el bisensor.

CROMO (VI)			CROMO (III)		
Concentración esperada ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Concentración obtenida ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Porcentaje de recuperación	Concentración esperada ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Concentración obtenida ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Porcentaje de recuperación
$1.00 \times 10^{-6}$	$1.06 \times 10^{-6}$	106	$1.00 \times 10^{-4}$	$1.05 \times 10^{-4}$	105
$3.16 \times 10^{-6}$	$3.28 \times 10^{-6}$	104	$1.00 \times 10^{-4}$	$1.07 \times 10^{-4}$	107
$1.00 \times 10^{-5}$	$1.07 \times 10^{-5}$	107	$1.00 \times 10^{-4}$	$1.13 \times 10^{-4}$	113

#### 4.4.3. CUANTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE CROMO PARA CONCENTRACIONES DE Cr (VI) SUPERIORES A $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

Para llevar a cabo la determinación de la concentración de las especies de cromo hexavalente y trivalente en mezclas cuando la concentración de la primera es superior a  $1.00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  fue necesaria la utilización de un procedimiento matemático de cálculo más complejo. La interferencia que produce el cromo (VI) en la medida del cromo (III) a esas concentraciones es la responsable de esta necesidad. El uso de estos procedimientos permite eliminar esa interferencia y cuantificar ambas especies empleando el bisensor descrito en este apartado.

Algunos autores proponen el empleo de métodos matemáticos de reconocimiento de pautas para realizar el procesado de los datos. En concreto se recomienda el empleo de las redes neuronales artificiales (*Artificial Neural Network*, ANN, en adelante) para procesar los datos obtenidos con sensores potenciométricos [Scott y col., 2007; Gallardo y col., 2003; Gallardo y col., 2005]. En nuestro grupo, una ANN de retropropagación con un algoritmo de aprendizaje de *gradiente descendente adaptativo* (*Gradient Descent Adaptative*, GDA, en adelante) se empleó con éxito para la cuantificación de metales pesados en mezclas [Gismera y col., 2009].

La respuesta potenciométrica del bisensor se modeliza utilizando la mencionada ANN con el algoritmo GDA. La red neuronal se construyó con una capa de entrada formada por dos neuronas, una por sensor, y una capa de salida con dos neuronas, una neurona por cada especie de cromo a cuantificar. El número de neuronas en las capas ocultas (o intermedias) y las funciones de transferencia empleadas se determinaron mediante prueba y error. La ANN fue entrenada y evaluada utilizando el software MATLAB v. 6.0 (Math Works). Como función de ajuste se emplea el valor medio de los cuadrados de los errores (*Mean sum of Squared of the network Errors*, MSE, en adelante) calculado según la siguiente expresión, ecuación 4.9

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - a_i)^2 \quad (4.9)$$

Donde  $N$  es el número de muestras y  $x_i$  y  $a_i$  son los valores obtenidos y esperados, respectivamente, de la concentración de las correspondientes especies de cromo siguiendo el modelo propuesto.

Se prepararon dos conjuntos de disoluciones diferentes que contienen concentraciones conocidas de ambas especies de cromo. Uno de estos conjuntos se denomina conjunto de muestras de entrenamiento y el otro conjunto de muestras de validación. Los datos obtenidos con el conjunto de muestras de entrenamiento se emplean para optimizar la topología y la estrategia de aprendizaje de la red neuronal. Los datos del conjunto de muestras de validación se emplean para validar el modelo, esto es, para estimar su capacidad de predicción. Tras la optimización de la ANN, los datos del conjunto de muestras de entrenamiento pueden introducirse en la red neuronal para evaluar la precisión del modelo en la calibración. Puede estimarse el cálculo del error relativo de calibración REC %. Del mismo modo puede evaluarse la capacidad de predicción de la ANN introduciendo los potenciales obtenidos por las muestras de validación y calcularse mediante el error relativo de predicción REP % [Sirven y col., 2006]. En ambos casos estos errores relativos se calculan mediante la siguiente expresión, ecuación (4.10).

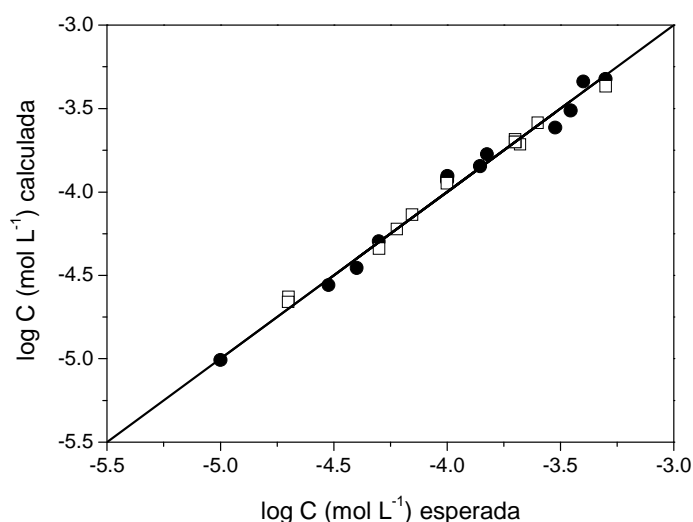
$$REC(\%) \text{ o } REP(\%) = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{a_i - x_i}{x_i} \right| \quad (4.10)$$

Las disoluciones que se prepararon contienen concentraciones comprendidas entre  $1.00 \times 10^{-5}$  y  $2.00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> para cromo (III) y  $1.00 \times 10^{-5}$  a  $5.00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> para cromo (VI). La concentración de éste último es igual o superior a la de cromo trivalente en todas las disoluciones. De estas disoluciones 13 muestras se emplean para el entrenamiento del modelo y 12 para la validación del mismo.

En el proceso de entrenamiento se evaluaron diferentes topologías de la red neuronal ensayando con capas intermedias compuestas por desde 25 hasta 100 neuronas y con funciones de transferencia lineales y no lineales. Los pesos y los coeficientes de transferencia se inicializaron para todas las configuraciones de entrenamiento evaluadas. Para optimizar la ANN se registraron los REC de cada tipología ensayada. Los valores más bajos de estos REC y los mejores coeficientes de

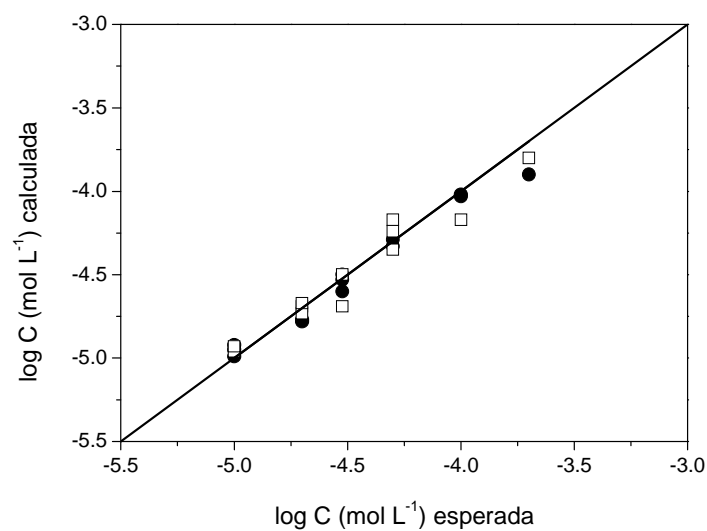
correlación se obtuvieron al emplear la función de transferencia no lineal *tansig* en las capas de entrada y oculta y la función de transferencia lineal *pureline* para la capa de salida. El valor más bajo de REC y el mejor coeficiente de correlación corresponden a la ANN que contiene 75 neuronas en la capa oculta y las funciones de transferencia antes indicadas.

En las figuras 4.71 y 4.72 pueden verse los datos obtenidos para cromo hexavalente y trivalente utilizando la configuración de la ANN optimizada. Se obtiene un mejor ajuste entre valores esperados y valores calculados para el cromo (VI) ( $y = 0.999x + 0.007$ ,  $r^2 = 0.986$ ,  $REC\% = 0.18$ ;  $y = 0.945x + 0.022$ ,  $r^2 = 0.994$ ,  $REP\% = 0.06$ , respectivamente) que para el cromo (III) ( $y = 0.888x - 0.526$ ,  $r^2 = 0.978$ ,  $REC\% = -0.68$ ;  $y = 0.883x - 0.535$ ,  $r^2 = 0.944$ ,  $REP\% = -0.32$ , respectivamente) tanto de los datos de entrenamiento como de los datos de validación. En esas mismas figuras se puede comprobar que la correlación entre datos de entrenamiento y de validación es buena para ambas especies del analito. Los resultados obtenidos muestran que el modelo propuesto para procesar los datos obtenidos con el bisensor para ambas especies de cromo a estos niveles de concentración presenta una satisfactoria capacidad de predicción.



**Figura 4.71.** Correlación entre los valores esperados y los obtenidos para el **Cr (VI)** en las muestras de entrenamiento (●) y de validación (□) usando la ANN. La línea representa la recta teórica  $y = x$ .





**Figura 4.72.** Correlación entre los valores esperados y los obtenidos para el **Cr (III)** en las muestras de entrenamiento (●) y de validación (□) usando la ANN. La línea representa la recta teórica  $y=x$ .



## 5. APLICACIONES



En este apartado se va a evaluar la utilización de los distintos sensores y metodologías de medida, optimizados en los apartados anteriores, para la determinación de las especies cromo (III) y cromo (VI) en muestras de distintas características en el campo medioambiental.

Dentro de las aplicaciones desarrolladas, por una parte se evalúa la utilización de los electrodos como indicadores potenciométricos en distintos tipos de valoraciones. Por otra parte, se han empleado los distintos tipos de sensores en la medida por potenciometría directa de la concentración del ión para el que ha sido diseñado.

## 5.1. VALORACIONES POTENCIOMÉTRICAS.

Debido a su alta selectividad a una determinada especie química en disolución, los sensores potenciométricos son ampliamente usados como indicadores en valoraciones de todo tipo. Esta mayor selectividad junto con la mayor sensibilidad de la medida, permite establecer con una mayor fiabilidad el punto final de una valoración. El empleo de los detectores potenciométricos como sistemas indicadores en valoraciones, se vuelve especialmente útil cuando existe turbidez o una fuerte coloración en la disolución a valorar. Se encuentran ejemplos de la utilidad de las valoraciones potenciométricas en valoraciones por precipitación, caso de la valoración de iones sulfato con plomo (II) [Abbaspour y col., 2010], en valoraciones complexométricas, como la determinación de vanadio (V) con AEDT [Quintar y col., 2005], en valoraciones de oxidación reducción, caso de un sensor de membrana líquida selectivo a triyoduro en el que se valora el analito con ácido ascórbico [Khalil y col., 2008] y en valoraciones ácido base, como es el caso del electrodo de vidrio empleado en las medidas de pH [Skoog y Leary, 1994].

El objetivo de este apartado es evaluar la capacidad de los sensores desarrollados como electrodos indicadores en valoraciones potenciométricas de cromo en sus dos estados de oxidación con reactivos de distinta naturaleza. Así se va a comprobar la capacidad de uso de los distintos sensores en valoraciones complexométricas y en valoraciones de oxidación-reducción.

A lo largo del desarrollo de la tesis doctoral, se han llevado a cabo valoraciones de cromo (III) y de cromo (VI) utilizando tanto los sensores basados en pasta de carbón modificada como los sensores con matriz polimérica. En este apartado se reflejan los resultados obtenidos para todas estas determinaciones.

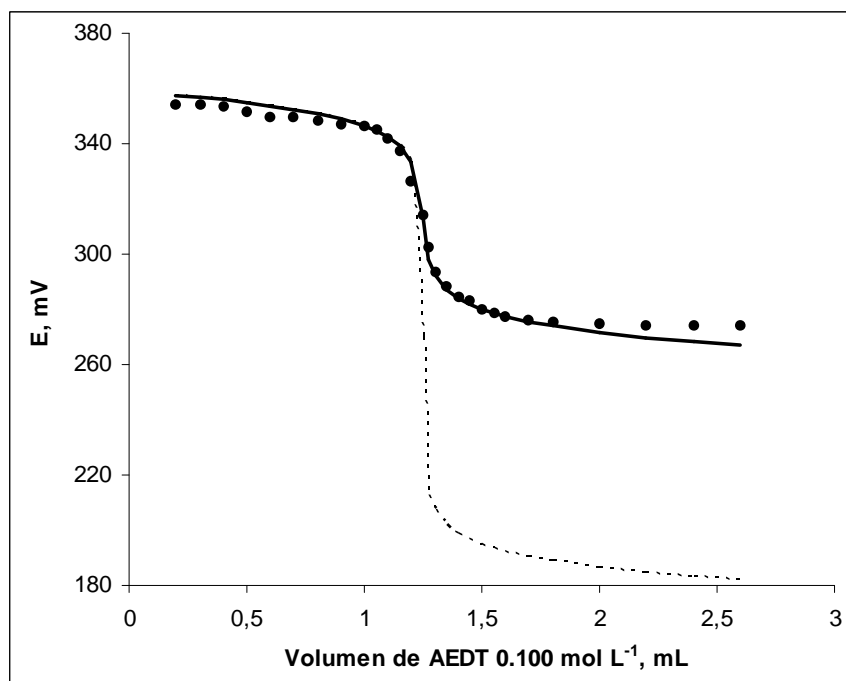
### 5.1.1 VALORACIÓN COMPLEXOMÉTRICA DE CROMO (III) CON AEDT.

La concentración de cromo (III) en una muestra puede determinarse mediante valoración. Una de las maneras más habituales es oxidarlo a su estado de oxidación hexavalente y determinarlo mediante valoración de oxidación reducción con un reductor, por ejemplo, hierro (II). Sin embargo, el cromo (III) forma complejos muy estables con un gran número de ligandos, lo que permite su determinación mediante valoración complexométrica [Pantel, 1987; Hopirtean y col., 1975]. Uno de los ligandos que puede emplearse para esta función es el AEDT. Este ligando forma complejos muy estables, de estequiometría 1:1 con el cromo (III) y un gran número de metales.

La reacción de cromo (III) con AEDT ha sido ampliamente estudiada y se ha comprobado que, para formar el complejo de índice de coordinación 6, es necesario calentar la disolución debido a la inercia del acuocomplejo [Burriel y col., 1983]. Sin embargo, la formación de complejos de índices de coordinación inferiores es suficientemente rápida y tienen suficiente estabilidad para poder llevar a cabo la valoración del metal rápidamente y con la adecuada cuantitatividad.

Para evaluar la capacidad del sensor PC-DHPE como indicador en valoraciones potenciométricas, se han llevado a cabo valoraciones de disoluciones de cromo (III)  $5.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  con disolución de AEDT  $0.1000 \text{ mol L}^{-1}$ . Las disoluciones a valorar se prepararon en las mismas condiciones de fuerza iónica y de pH ( $\text{NaNO}_3$   $0.100 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ ) en las que se ha optimizado la medida potenciométrica.

La curva de valoración típica obtenida se muestra en la figura 5.1. Puede observarse en la figura que la curva de valoración presenta la forma sigmoide característica de las valoraciones potenciométricas. En la figura 5.1 también se representa la curva teórica de valoración calculada a partir de la constante condicional de formación del complejo, estimada en las condiciones de valoración.



**Figura 5.1.** Datos experimentales (●), curva teórica obtenida a partir de la constante condicional a pH 3 calculada en base a las constantes bibliográficas (---) y curva estimada a partir de los datos experimentales (—) de la valoración potenciométrica de 25.00 mL de cromo (III)  $5.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  con AEDT  $0.100 \text{ mol L}^{-1}$  realizada con el sensor PC-DHPE.

Puede observarse que la curva teórica calculada a partir de la constante condicional,  $1.65 \times 10^{12}$ , estimada de la constante bibliográfica ( $1.0 \times 10^{23}$ ), se ajusta mal a la curva experimental. Un poco antes del punto de equivalencia, la concentración de cromo (III) calculada es inferior al límite de detección obtenido para el sensor. Este resultado es debido a que el cálculo se ha realizado con la constante del complejo de índice de coordinación 6, que no se forma apreciablemente en las condiciones de reacción.

De acuerdo a este resultado, nos planteamos calcular la constante condicional del complejo, en las condiciones de reacción. Para realizar esta estimación, se ajustó la curva de valoración a los datos experimentales mediante el cambio iterativo del valor de dicha constante hasta obtener el mejor ajuste.

El ajuste de los datos se realizó utilizando la aplicación Solver del paquete informático Excel de Microsoft. Como función de ajuste de los datos se utilizó

nuevamente el valor medio de los cuadrados de los errores (ecuación 4.9). La constante estimada mediante este cálculo es  $2.70 \times 10^7$  inferior al valor de la constante condicional del complejo de coordinación más alta.

El punto final de la valoración se determinó mediante el cálculo de la primera derivada de la curva de valoración, obteniéndose un máximo a un volumen de 1.250 mL que coincide con el valor del punto de equivalencia teórico. Para determinar la precisión de las medidas, se realizó varias veces la determinación de una disolución  $5.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de cromo (III), obteniendo un valor promedio y una incertidumbre ( $P= 0.05$ ,  $n = 5$ ) de  $5.01 \pm 0.02 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Este resultado confirma la capacidad del electrodo para la realización de este tipo de determinaciones con la adecuada precisión.



### 5.1.2 SEGUIMIENTO POTENCIOMÉTRICO DEL SISTEMA HIERRO (II) / CROMO (VI).

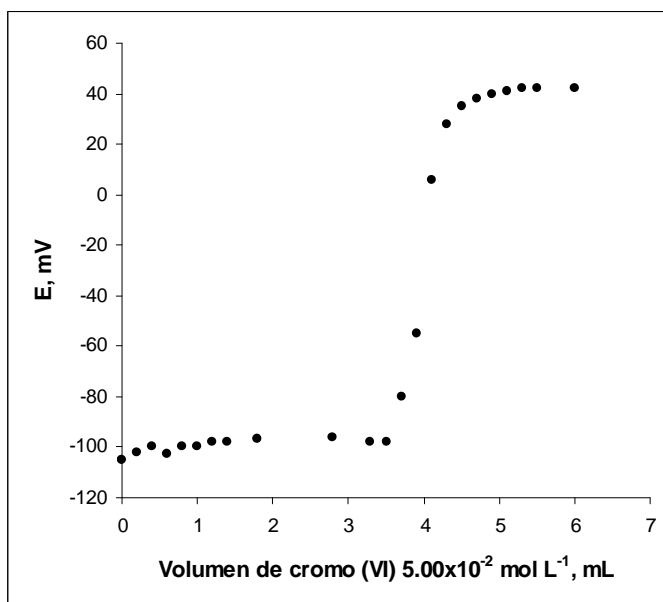
El cromo en su estado de oxidación hexavalente se emplea, como agente oxidante, en un gran número de análisis basados en valoraciones de oxidación reducción. Por otra parte, la reacción de cromo (VI) con hierro (II) puede emplearse en la reducción de cromo (VI) a su especie menos tóxica cromo (III) en suelos contaminados [Hwang y col., 2002]. Este carácter oxidante también se ha empleado en estudios de transferencia electrónica en sistemas micelares como modelo del transporte de electrones en sistemas biológicos debido a la capacidad oxidante del cromo (VI) frente a  $\alpha$ -hidroxiácidos [Kabir-Ud-Din y col., 2001].

Para evaluar la utilidad analítica de los sensores construidos con DPCI sensibles a cromo (VI) en valoraciones redox, se llevó a cabo el seguimiento potenciométrico de la reducción del cromo a su estado de oxidación trivalente mediante su reacción con hierro (II) que, a su vez, se oxida a hierro (III).

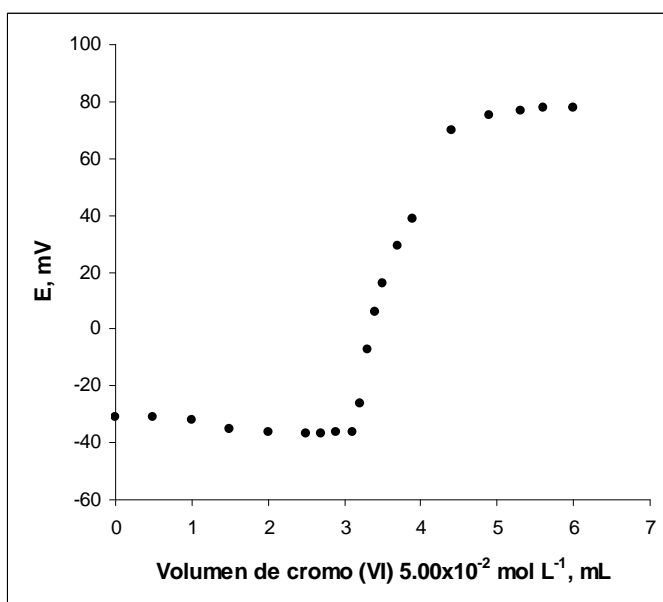
En la realización de este estudio, se han utilizado tanto el sensor de pasta de carbón como el de material polimérico. Los resultados permitirán determinar si el material del electrodo es afectado por la reacción de oxidación reducción o si la matriz del electrodo afecta a la curva de valoración observada. Una vez comprobado que pueden utilizarse los sensores como indicadores en reacciones redox, estos se emplearon en la determinación de la concentración de hierro (II) en un preparado farmacéutico.

#### 5.1.2.1 CURVAS DE VALORACIÓN.

Para comprobar si los sensores desarrollados permiten el seguimiento de valoraciones donde se utiliza cromo (VI) como reactivo valorante se ha seguido potenciométricamente el transcurso de la valoración de 50.0 mL de una disolución de hierro (II)  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  con disolución de cromo (VI)  $5.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Las figuras 5.2 y 5.3 muestran los valores de potencial medidos con los electrodos de pasta de carbón y de material polimérico, respectivamente, al añadir volúmenes crecientes de disolución de cromo (VI).



**Figura 5.2.** Curva de valoración obtenida con el sensor de **PC-DPCI** de una disolución de 50.0 mL de hierro (II)  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  con cromo (VI)  $5.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ .



**Figura 5.3.** Curva de valoración obtenida con el sensor de **MP-DPCI** para una disolución de 50.0 mL de hierro (II)  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  con cromo (VI)  $5.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ .

Lo primero que cabe destacar, a la vista de las representaciones expuestas, es la forma que adopta la curva de valoración en cada una de las valoraciones y para cada uno de los sensores. Aunque la curva presenta una apariencia en forma de S característica de una curva de valoración potenciométrica, en la zona inicial no

presenta el típico cambio gradual de potencial. Cuando la valoración se acerca a la zona del punto de equivalencia, la curva presenta ya la forma sigmoide.

La explicación de este comportamiento es el límite de detección que se alcanza con el sensor. En las etapas iniciales de la valoración, antes del punto de equivalencia, la concentración de cromo (VI) que queda sin reaccionar con el hierro (II) es tan pequeña que no puede ser detectada por el sensor. Cuando nos acercamos al punto de equivalencia, la concentración de cromo (VI) en la disolución de medida es lo suficientemente alta para poder ser detectada, produciéndose un cambio brusco en el potencial medido. Una vez sobrepasado el punto de equivalencia, la curva de valoración presenta la típica forma sigmoidal. Como el punto de equivalencia está cerca del límite de detección del sensor, para calcular el punto final de la valoración se extrapolan las zonas lineales anterior y posterior a la zona de cambio brusco de pendiente. El punto de corte de ambas rectas será el punto de equivalencia.

El punto de equivalencia teórico se encuentra a 3.33 mL según las concentraciones de los iones con las que se llevó a cabo el ensayo. Para el sensor de pasta de carbón, dicho punto se calcula a  $3.39 \pm 0.21$  mL (n=5) mientras que para el sensor de material polimérico, el final de la valoración se calcula en  $3.15 \pm 0.11$  mL (n=5). En ambos casos existe una adecuada concordancia entre los resultados experimentales y el valor esperado. La diferencia encontrada con ambos sensores se debe al menor límite de detección que presenta el sensor MP-DPCI frente al sensor PC-DPCI.

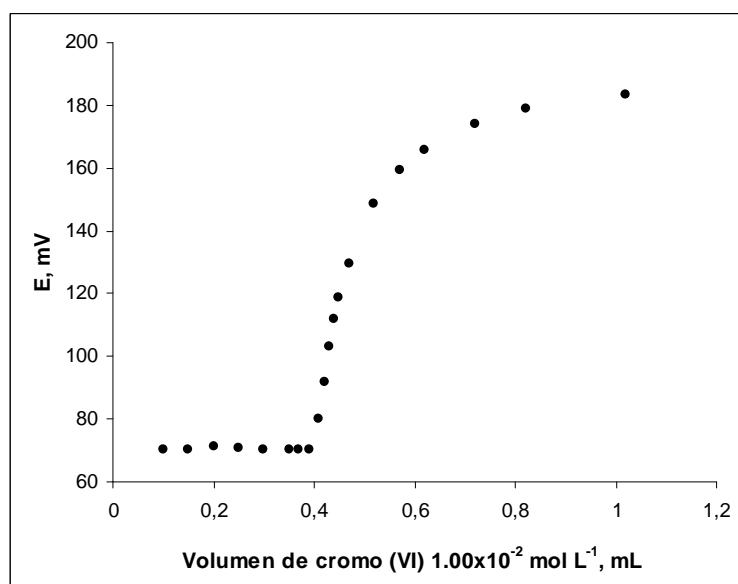
Como conclusión de este estudio podemos afirmar que los sensores modificados con DPCI pueden emplear con éxito para el seguimiento potenciométrico de la reacción entre los sistemas hierro (III) / hierro (II) y cromo (VI) / cromo (III). No se han observado cambios apreciables en la respuesta de los sensores durante la valoración lo que indica una buena estabilidad de ambos sensores.

#### 5.1.2.2 ANÁLISIS DE HIERRO (II) EN UN PREPARADO FARMACÉUTICO.

Tal como se ha observado en el apartado anterior, el sensor construido en material polimérico, permite determinar con una mayor precisión el punto final de la valoración. Por tanto, se seleccionó este electrodo como indicador potenciométrico en

la determinación de la concentración de hierro en un producto farmacéutico utilizado para enfermos con anemia.

La muestra elegida para el análisis fueron pastillas de un suplemento de hierro de la marca Tardyferon® (*Laboratorios Pierre Fabre Iberica, España*). Este preparado farmacéutico está constituido por sulfato ferroso sesquihidratado y excipientes [Mucoproteosa, almidón de patata, Eudragit S (copolímero de ácido metacrílico y metacrilato de metilo), citrato de trietilo, polividona, talco, estearato de magnesio, aceite de ricino hidrogenado, trisilicato de magnesio, dióxido de titanio (E171), almidón de arroz, colorante amaranto (E123), cera blanca de abeja, parafina sólida, cera carnauba, Eudragit E (copolímero de ésteres del ácido metacrílico y dimetilaminoetilmetacrilato) y sacarosa]. La cantidad nominal de sulfato de hierro es de 256.30 mg por pastilla lo que equivale a 80 mg de hierro elemental. El procedimiento empleado en la determinación de la cantidad de hierro en el preparado se describe en el apartado 3.3.2.3 de la parte experimental. En esencia éste consiste en extraer el hierro (II) presente en la muestra con HCl. A un volumen adecuado de la disolución se le ajusta el pH y la fuerza iónica, y se valora con disolución de cromo (VI)  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . En la figura 5.4 se presenta la curva de valoración obtenida al analizar la muestra.



**Figura 5.4.** Curva de valoración de la dilución 1:100 del extracto de la pastilla de Tardyferon con cromo (VI)  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  como valorante.

Los resultados obtenidos de cantidad de hierro (II) por pastilla se presentan en la tabla 5.1. La curva presenta una morfología similar a la del patrón. Para contrastar el resultado obtenido utilizando la valoración electroquímica, se determinó la concentración de hierro total en el extracto mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica en Llama (FAAS). Los resultados también se reflejan en la tabla 5.1 donde se observa que la cantidad de hierro determinada mediante valoración potenciométrica coincide con la obtenida mediante FAAS (para un nivel de confianza de  $P = 0.05$ ) y con el valor nominal del preparado. Los resultados también confirman que el procedimiento elegido para el tratamiento de muestra no altera apreciablemente el estado de oxidación del hierro en la muestra y que los excipientes del preparado no interfieren en la determinación.

**Tabla 5.1.** Comparación de los datos obtenidos siguiendo métodos de análisis diferentes para la determinación de la cantidad de hierro la pastilla de Tardyferon. (n = 5)

Método	Peso promedio por pastilla, mg	Concentración de hierro (II) en el extracto ( $\pm$ sd), mol L <sup>-1</sup>	Cantidad de hierro en la pastilla, ( $\pm$ sd) mg	Cantidad nominal de hierro por pastilla, mg
FAAS	630.29	$(3.02 \pm 0.13) \times 10^{-2}$	$84.2 \pm 3.6$	80
Valoración potenciométrica		$(2.88 \pm 0.08) \times 10^{-2}$	$80.4 \pm 2.3$	

## 5.2. ANÁLISIS MEDIANTE POTENCIOMETRÍA DIRECTA

### 5.2.1. CONTROL DE CROMO (III) EN RESIDUOS INDUSTRIALES MEDIANTE PC-DHPE.

Las industrias relacionadas con el cromo (curtiembres, galvanizado, metalúrgicas, producción de pigmentos, fertilizantes e incineración de productos industriales como aceites y cueros) son consideradas contaminantes para el suelo y las aguas superficiales. El cromado es un galvanizado, basado en la electrólisis, por medio del cual se deposita una fina capa de cromo metálico sobre objetos metálicos e incluso sobre material plástico. El recubrimiento electrolítico con cromo es extensamente usado en la industria para proteger metales de la corrosión, mejorar su aspecto y sus prestaciones. [Hamilton y Wetterhahn, 1987]. El tratamiento consiste en la obtención de capas por formación de cromatos sobre la superficie metálica a recubrir en la que se disuelve parte del metal y se reduce el cromo hexavalente a trivalente. El procedimiento se basa en la inmersión de las piezas a galvanizar en un baño de ácido crómico en agua en una proporción de  $300 \text{ g L}^{-1}$  a la que se añade  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado en una proporción de  $2 \text{ g L}^{-1}$ . Este baño pierde efectividad según se ve reducida su concentración en cromo (VI) y, por tanto, aumentada la de cromo (III).

La problemática generada por este proceso lleva a la necesidad de realizar un control de las concentraciones de las diferentes especies de cromo. Este control es necesario, por una parte, para controlar la merma de la efectividad del baño de cromado y, por otra parte, para controlar la generación de residuos de manera que la cantidad de cromo hexavalente vertido no supere los niveles que establece la legislación.

Actualmente se han empezado a reciclar los baños de cromado de manera que puedan ser reutilizados, para que no sea necesario su vertido. Para ello se utiliza la técnica denominada Electro-electrodialisis [Frenzel y col., 2005]. Durante el reciclado, es muy importante conocer la cantidad de cromo (III) tanto a la entrada como a la salida para llevar un control del funcionamiento del proceso. Este control requiere la utilización de un método muy selectivo de medida puesto que la cantidad de interferentes es elevada, en especial de cromo (VI).

Para estudiar la capacidad de los sensores para el análisis y control de efluentes industriales de galvanizado, se prepararon cuatro muestras sintéticas cuya concentración y naturaleza de las especies químicas presentes se ha seleccionado basándonos en los datos que aportan publicaciones sobre este tipo de tratamiento de efluentes [Frenzel y col. 2005 y 2006; Magalhaesa y col., 2005]. La composición de las mezclas se refleja en la tabla 5.2, la primera muestra corresponde a los valores de las concentraciones máximas permitidas en vertido para empresas de recubrimientos metálicos establecidos en La Rioja [BOLR, 2007]; las muestras 2 y 3 se corresponden con los valores típicos observados a la entrada y a la salida de las plantas de reciclaje de baños de cromado [Frenzel y col. 2005 y 2006; Magalhaesa y col., 2005], respectivamente, mientras que la cuarta muestra se diseñó como un valor intermedio entre todos ellos.

**Tabla 5.2.** Composición de las muestras sintéticas preparadas para simular el contenido en metales de los efluentes característicos de la industria del galvanizado.

Componentes	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Cr(III), mol L <sup>-1</sup>	1.00x10 <sup>-4</sup>	7.00x10 <sup>-3</sup>	8.00x10 <sup>-4</sup>	5.00x10 <sup>-4</sup>
Cr(VI), mol L <sup>-1</sup>	2.00x10 <sup>-5</sup>	5.00x10 <sup>-2</sup>	4.00x10 <sup>-2</sup>	1.00x10 <sup>-4</sup>
Fe (III), mol L <sup>-1</sup>	2.00x10 <sup>-4</sup>	2.00x10 <sup>-3</sup> *	5.00x10 <sup>-5</sup>	1.00x10 <sup>-5</sup>
Zn (II), mol L <sup>-1</sup>	1.50x10 <sup>-4</sup>	2.00x10 <sup>-2</sup>	8.00x10 <sup>-4</sup>	1.00x10 <sup>-3</sup>

\* A esa concentración y al valor de pH de 3 en el que se ha trabajado, el hierro se encuentra en forma de precipitado y se retira de la disolución mediante filtración evitando así la posible interferencia.

En las muestras descritas, se analizó el contenido de cromo (III), mediante potenciometría directa, utilizando como sensor el electrodo de pasta de carbón modificado con DHPE, para conocer si el sistema de medida permite la determinación de esta especie con buena exactitud y precisión en presencia de las otras especies. Las medidas se realizaron tanto en condiciones estáticas como en condiciones de flujo. Las medidas en flujo se plantearon considerando que el análisis en continuo es el método más adecuado para llevar a cabo el control de efluentes y el control de procesos en la industria.

**Tabla 5.3.** Concentraciones de cromo trivalente determinadas con el sensor PC-DHPE según método de medidas en estático o en flujo. Porcentaje de recuperaciones obtenidas respecto a las concentraciones teóricas.

		Muestra 1:	Muestra 2:	Muestra 3:	Muestra 4:
	Cr(III), mol L <sup>-1</sup> Teórica	1.00x10 <sup>-4</sup>	7.00x10 <sup>-3</sup>	8.00x10 <sup>-4</sup>	5.00x10 <sup>-4</sup>
FIP	Cr(III), mol L <sup>-1</sup>	(0.95±0.07)x10 <sup>-4</sup>	(7.1±0.4)x10 <sup>-3</sup>	(8.4±0.6)x10 <sup>-4</sup>	(4.9±0.2)x10 <sup>-4</sup>
	Porcentaje de recuperación, %	95±7	101±6	105±7	98±4
ESTÁTICO	Cr(III), mol L <sup>-1</sup>	(1.1±0.1)x10 <sup>-4</sup>	(6.8±0.3)x10 <sup>-3</sup>	(1.6±0.1)x10 <sup>-3</sup>	(4.9±0.5)x10 <sup>-4</sup>
	Porcentaje de recuperación, %	110±10	97±4	200±13	98±10

En la tabla 5.3 se muestran los valores medios y la desviación estándar de la concentración de cromo (III) obtenidos para tres repeticiones realizadas para cada muestra empleando ambos tipos de metodología de medida. Se observa que para las muestras 1, 2 y 4 se obtienen resultados comparables mediante ambos métodos de medida, pero en todos los casos la mejor precisión se obtiene con el análisis en flujo. El resultado obtenido para la muestra 3 en el análisis en estático es mucho más alto que el valor esperado debido a la interferencia producida por el cromo (VI) en la respuesta del sensor. En esta muestra la concentración de cromo (VI) es cincuenta veces superior a la del cromo (III). En cambio el resultado obtenido en el análisis en flujo de esta misma muestra es más próximo al valor esperado. Este resultado confirma el menor grado de interferencia observado en medidas en continuo, lo que hace más útil esta metodología en el control de efluentes.

Estos resultados reflejan una buena exactitud en la medida y la eficacia del sistema de medida para la determinación de cromo (III) en este tipo de muestras. El bajo coste del sensor, así como la sencillez y rapidez de la medida justifican la posibilidad de estudiar la utilización de los sistemas en el control de vertidos en este tipo de industrias.



### 5.2.2. DETERMINACIÓN DE CROMO (VI) EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS UTILIZANDO LOS SENSORES PC-DPCI Y MP-DPCI.

Los ríos y lagos cercanos a zonas industriales son áreas de influencia directa de la actividad antrópica y, por lo tanto, son los sistemas acuáticos que sufren de una manera más intensa los impactos de dichas actividades. Los sedimentos marinos y de lagos son el depósito final de las sustancias contaminantes introducidas en las aguas superficiales a través de procesos naturales e industriales. Dependiendo de las variaciones en las características físicas y químicas del medio acuático, estos sedimentos pueden actuar bien como sumidero o bien como fuente de sustancias tóxicas que modifican las propiedades naturales de la columna de aguas y alteran la trama trófica acuosa [Luoma, 1983; Janson y col., 1982].

El conocimiento de las propiedades y composición de los sedimentos permite evaluar el grado de contaminación de los ambientes hídricos y reconocer eventuales perturbaciones derivadas de la acumulación de sustancias antropogénicas y naturales que puedan constituir riesgos para el ecosistema. En los últimos años se ha incrementado el interés por desarrollar estudios sobre el comportamiento de los metales pesados en los ambientes acuáticos, debido a su potencial peligro sobre una gran variedad de flora y fauna, así como también sobre los seres humanos [Zhang y col., 2002]. Los metales, a diferencia de otros compuestos tóxicos orgánicos, no son biodegradables y pueden acumularse en los tejidos vivos y concentrarse en la cadena alimenticia [An y col., 2001]. Para el caso concreto del cromo hay que tener en cuenta la diferente toxicidad que tienen los estados de oxidación trivalente y hexavalente. A esta mayor toxicidad del cromo (VI) frente al cromo (III) hay que añadir que, mientras el cromo trivalente es relativamente inerte, es decir, es fácilmente absorbido por los sólidos del medio y retenido fuertemente en ellos, la especie hexavalente tienen una mayor biodisponibilidad debido a su mayor movilidad en el medio ambiente ya que es mucho más soluble [Unceta y col., 2010].

Para estudiar la utilidad de los sensores desarrollados en el análisis de cromo (VI) en muestras de sedimentos, se ha llevado a cabo el análisis de un sedimento de lago que es material certificado. Este material de referencia tiene una cantidad de cromo total de  $190.96 \mu\text{g g}^{-1}$  que puede estar en ambos estados de oxidación. Debido a la estabilidad de los dos estados de oxidación en el medio, se espera que la cantidad de cromo (III) sea superior a la de cromo (VI) en la muestra. En el estudio se

pretende determinar que porcentaje del contenido de cromo total presente está en forma de cromo (VI).

El método habitual de análisis de la especie cromo (VI) en muestras de suelo y sedimento consiste en la extracción selectiva de dicha especie en medio alcalino [Filgueiras y col., 2002; Hlavay y col., 2004; Sahuquillo y col., 2003; Gleyzes y col., 2002]. En esta aplicación se utilizó como método de extracción la metodología descrita en el Método 3060 de la US EPA [US EPA, 1995].

Para ello, se pone en contacto, mediante agitación, una determinada cantidad de sedimento con una disolución de NaOH  $0.10 \text{ mol L}^{-1}$  durante 24 horas en un tubo de centrífuga. Una vez realizada la extracción, se separa el sobrenadante por centrifugación y el centrifugado se filtra para eliminar particulados. En el filtrado se lleva a cabo la determinación del cromo (VI) extraído. Al aplicar el método, se disuelven en el extractante todas las especies de cromo hexavalente existentes en la muestra, pero conjuntamente se extraen diversos compuestos presentes que son solubles en medio alcalino, especialmente materia orgánica, que pueden interferir en la determinación del cromo (VI). Los extractos obtenidos a través del método presentan un pH superior a 12, lo que evita la solubilización de las especies de cromo trivalente.

La concentración de cromo (VI) en este extracto se determinó mediante medida potenciométrica utilizando los sensores modificados con DPCI. Se utilizó tanto el sensor de pasta de carbón modificada como el construido en material polimérico. Para validar los resultados que se obtienen mediante potenciometría directa, se analizó también el extracto mediante el método espectrofotométrico basado en la formación de un complejo violeta entre cromo (III) y la difenilcarbazona (DPCO), que presenta un máximo de absorción a una longitud de onda de 540 nm. El complejo se forma al hacer reaccionar la disolución que contiene cromo (VI) con una disolución de difenilcarbazona en acetona, en medio ácido, por lo que la cantidad de complejo formado dependerá de la concentración existente de la especie hexavalente. Este método espectrofotométrico se utiliza comúnmente en la determinación selectiva de cromo (VI) [Marczenko, 1976; Fries y Getrost, 1977].

### 5.2.2.1 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO.

Como ya se ha comentado, junto al cromo (VI) en medio básico se extraen sustancias orgánicas solubles, entre las que se encuentran los ácidos húmicos y fúlvicos. Estos compuestos orgánicos absorben a la longitud de onda que absorbe el complejo formado entre el cromo (III) y la DPCO dificultando la medida espectrofotométrica. Por lo tanto, para llevar a cabo la determinación del cromo hexavalente mediante espectrofotometría es necesario llevar a cabo un pretratamiento de la muestra que elimine esta interferencia.

Las sustancias húmicas están muy extendidas en los medios naturales. Los ácidos húmicos son una mezcla heterogénea de ácidos polifuncionales, de gran tamaño y alto peso molecular. Debido a su característica de ácido débil, son solubles en disoluciones alcalinas y precipitan en disoluciones ácidas (por debajo de pH 2). Los ácidos fúlvicos, que acompañan a los ácidos húmicos en los sedimentos, son compuestos de estructura similar pero que tienen un menor peso molecular, por lo que son solubles en medios alcalino y ácido. La formación de las sustancias húmicas y fúlvicas tiene lugar durante los procesos de descomposición de los seres vivos. Por tanto, se encuentran en elevadas concentraciones en lodos, lignito, aguas naturales, sedimentos de aguas marinas y lagos, turba, hullas marrones y otros depósitos naturales [Lubal y col., 1998; Klavins y col., 1999]. Su presencia en alta concentración en la muestra y su solubilidad hace inevitable que se extraigan junto al analito.

Para que la reacción entre el cromo y la DPCI tenga lugar es necesario que la disolución tenga un pH inferior a 2, lo que provoca la precipitación parcial o total de los ácidos húmicos en el extracto pero no de los ácidos fúlvicos. A pesar de volver a filtrar queda suficiente cantidad de materia orgánica en disolución para interferir en la medida espectrofotométrica. Esta interferencia se debe tanto a la absorbancia de materia orgánica soluble como a la dispersión de la luz que producen los coloides que quedan en la disolución del analito después del filtrado. La absorbancia de estas muestras llega a ser muy elevada, en torno a 3 unidades de absorbancia, lo que hace imposible la cuantificación del analito. Para eliminar este problema, en el procedimiento de análisis se lleva a cabo un pretratamiento de la muestra para retirar estos coloides del extracto. [Pettine y Capri, 2005].

Este procedimiento, que se describe en el apartado 3.3.3.1 del 'Desarrollo experimental', consiste en poner en contacto un determinado volumen de la muestra con el adsorbente XAD-8 que retiene a la materia orgánica y decolora el extracto. Se obtiene así una disolución cuya absorbancia puede medirse sin interferencias. A continuación se añaden las cantidades necesarias de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y DPCI y se mide la absorbancia de la disolución a 540 nm de longitud de onda. Los datos de concentración de cromo (VI), obtenidos mediante este procedimiento, se presentan en la tabla 5.4 comparados con los del método potenciométrico.

### 5.2.2.2 ANÁLISIS POTENCIOMÉTRICO.

A diferencia de la medida espectrofotométrica, las medidas potenciométricas están mucho menos influenciadas por la presencia de sustancia que acompañan el analito en el extracto, especialmente sustancias absorbentes disueltas y particulados. Para comprobar si la coextracción de sustancias húmicas y fúlvicas puede afectar a la medida potenciométrica, se llevó a cabo la determinación de cromo (VI) en el extracto mediante potenciometría directa antes y después de llevar a cabo el pretratamiento.

Se puede observar en la tabla 5.4 que las concentraciones obtenidas mediante la aplicación de los diferentes métodos no difieren significativamente, destacando el hecho de que sea imposible llevar a cabo la determinación espectrofotométrica del cromo (VI) sin realizar el pretratamiento de la muestra, mientras que la medida potenciométrica permite realizar el análisis aunque con una precisión ligeramente inferior. Los resultados obtenidos en la determinación potenciométrica con ambos electrodos son muy similares tanto antes como después de realizar el pretratamiento de la muestra. Además no existen diferencias significativas cuando se realiza la determinación con el electrodo de pasta de carbón o con el de material polimérico, por lo que pueden utilizarse indistintamente.

**Tabla 5.4.** Concentraciones de cromo (VI) presentes en el extracto del sedimento utilizando tanto el método potenciométrico como el método espectrofotométrico.  
Datos en  $\mu\text{g g}^{-1}$  en el sedimento. (n=3)

	ESPECTROFOTOMETRÍA	POTENCIOMETRÍA CON PC-DPCI	POTENCIOMETRÍA CON MP-DPCI
Pretratamiento con resina XAD-8	$45.8 \pm 1.1$	$47.5 \pm 5.6$	$47.0 \pm 3.1$
Sin pretratamiento	-	$46.2 \pm 2.9$	$45.3 \pm 2.7$

### 5.2.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO CON EL SENSOR SP-DPCI.

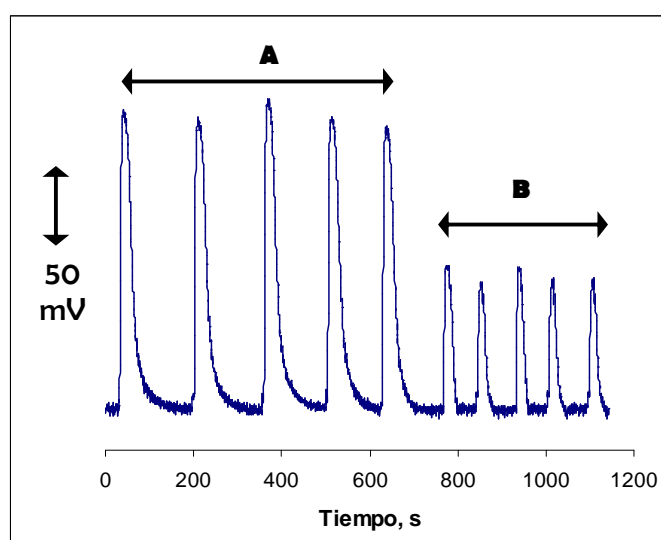
En España se encuentran regulados los criterios sanitarios que deben cumplir las aguas destinadas al consumo humano y las instalaciones que permiten su suministro desde la captación hasta el grifo del consumidor y el control de éstas, garantizando su salubridad, calidad y limpieza, con el fin de proteger la salud de las personas de los efectos adversos derivados de cualquier tipo de contaminación de las aguas [RD, 2003].

Este Real Decreto surge para incorporar en el derecho interno español la Directiva 98/83/CE [UE, 1998]. En el anexo I de Real Decreto se establecen los parámetros químicos de estas aguas de consumo, estableciéndose una concentración máxima para el cromo de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Por tanto, una metodología analítica que se desarrolle para el control de este contaminante en las aguas destinadas al consumo humano deberá ser capaz de detectar el analito a esos niveles de concentración. El sensor SP-DPCI que ha sido desarrollado y descrito en la presente memoria puede ser una buena alternativa para llevar a cabo esta determinación, puesto que es altamente selectivo y capaz de alcanzar ese límite de detección. Su miniaturización y la posibilidad de trabajar en flujo le otorgan ciertas ventajas sobre otros métodos que, sobre todo, resultan más costosos.

Para estudiar si la composición de la matriz de la muestra afecta a la medida de la concentración, se analizaron muestras de cuatro tipos diferentes de aguas, dos de ellas son aguas minerales comerciales y otras dos son naturales. Las aguas minerales de origen comercial se eligieron de manera que tuvieran distinta composición. Así una de ellas es blanda, con un bajo contenido en carbonatos y calcio (agua comercial B), mientras que la otra contiene mayores cantidades de sales disueltas (agua comercial A). En cuanto a las aguas de origen natural, una fue muestreada en la cuenca del río Manzanares y la otra fue tomada de la red de distribución regional. Las características de las muestras figuran en el apartado 3.1.1.

La concentración de cromo presente en las muestras se encuentra por debajo de la concentración mínima detectable por el sensor, confirmando que todas las muestras cumplen la normativa de aguas para consumo humano. Para comprobar que la medida puede alcanzar el grado de fiabilidad requerido en las medidas se ha procedido a fortificar las muestras. A una alícuota de cada muestra se le añadió la cantidad de cromo necesaria para que alcance el límite de concentración exigido por la normativa en primer caso y otra muestra con una cantidad ligeramente superior. El análisis de las muestras fortificadas se llevó a cabo tanto mediante el sistema en flujo propuesto como mediante el sistema en estático depositando 200  $\mu\text{L}$  de disolución de la muestra sobre los electrodos. La figura 5.5 refleja los diagramas obtenidos para la muestra de agua de la red de distribución fortificadas con cromo.



**Figura 5.5.** Diagramas para la muestra de agua de red fortificada con: A  $2.00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  y B  $1.00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  de cromo (VI)

Los resultados obtenidos mediante las dos metodologías de análisis empleadas se reflejan en la tabla 5.5. Se puede observar que no hay diferencias significativas en los valores de concentración de cromo medidos en las cuatro muestras. Esto indica que la medida de los potenciales no está influenciada por la presencia de otras especies químicas en la muestra.

Para el sistema de análisis en flujo se obtienen recuperaciones más altas de las esperadas, para las muestras fortificadas al nivel de concentración de analito que permite la normativa de aguas destinadas al consumo humano. Estas muestras contienen una cantidad de analito justo al límite de detección del método, y no es posible la adecuada cuantificación del analito. Para una concentración de cromo (VI) de  $2.00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  se supera ligeramente el límite de cuantificación y las recuperaciones son cercanas al 100%.

**Tabla 5.5.** Determinación de cromo (VI) en muestras de aguas fortificadas.

Muestra	Cr(VI) puesto, $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Cr (VI) encontrado Modo estático, $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Recuperación, %	Cr (VI) encontrado Modo FIP, $\text{mol L}^{-1}$	Recuperación, %
Agua mineral comercial, A	$1.00 \times 10^{-6}$	$(1.04 \pm 0.10) \times 10^{-6}$	104	$(1.18 \pm 0.04) \times 10^{-6}$	118
	$2.00 \times 10^{-6}$	$(2.05 \pm 0.08) \times 10^{-6}$	103	$(1.96 \pm 0.04) \times 10^{-6}$	98
Agua mineral comercial, B	$1.00 \times 10^{-6}$	$(1.03 \pm 0.08) \times 10^{-6}$	103	$(1.17 \pm 0.03) \times 10^{-6}$	117
	$2.00 \times 10^{-6}$	$(1.98 \pm 0.09) \times 10^{-6}$	99	$(1.91 \pm 0.06) \times 10^{-6}$	95
Agua de red	$1.00 \times 10^{-6}$	$(1.06 \pm 0.09) \times 10^{-6}$	106	$(1.20 \pm 0.06) \times 10^{-6}$	120
	$2.00 \times 10^{-6}$	$(2.10 \pm 0.07) \times 10^{-6}$	105	$(2.00 \pm 0.05) \times 10^{-6}$	100
Agua de río	$1.00 \times 10^{-6}$	$(1.07 \pm 0.10) \times 10^{-6}$	107	$(1.13 \pm 0.03) \times 10^{-6}$	113
	$2.00 \times 10^{-6}$	$(2.03 \pm 0.08) \times 10^{-6}$	102	$(1.92 \pm 0.06) \times 10^{-6}$	96

La medida de potenciales en estático permite alcanzar un límite de detección inferior, por lo que las concentraciones de cromo en todas las muestras, tanto las fortificadas con concentraciones de  $1.00 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> como con  $2.00 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> de cromo (VI), muestran recuperaciones próximas al 100%. Estos resultados indican que, la medida en estático con electrodos serigrafados, ofrece una buena alternativa cuando no podemos determinar la concentración de cromo con el sistema FIP, debido a su menor sensibilidad.

En conclusión, utilizados de forma conjunta, estos sistemas de análisis potenciométrico con el electrodo de SP-DPCI son una opción a tener en cuenta en la regulación y control de los niveles de calidad de aguas destinadas al consumo humano.

### 5.2.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO (VI) Y CROMO (III) EN LIXIVIADOS DE VERTEDERO UTILIZANDO EL SENSOR SP-DPCI Y EL BISENSOR.

Las ciudades generan una gran cantidad de residuos que deben ser procesados para evitar problemas ambientales. Uno de los principales métodos empleados es su depósito en vertederos controlados. Los vertederos de residuos urbanos se consideran como no peligrosos, pero durante el almacenaje de los residuos, éstos se descomponen a través de una serie de procesos físico-químicos y biológicos. Como consecuencia de este proceso de descomposición y a la percolación del agua de lluvia a través del lecho de residuos, se forma un efluente líquido que disuelve y arrastra los diferentes componentes que constituyen los residuos sólidos y sus productos de descomposición, generando un residuo acuoso denominado lixiviado. Los lixiviados son una mezcla compleja y variable de compuestos orgánicos e inorgánicos solubles, microorganismos y materia en suspensión, con un intenso color oscuro, un desagradable olor y que presenta una elevada toxicidad.

Los lixiviados presentan una composición bastante compleja y variable. Sus componentes químicos pueden clasificarse en cuatro grandes categorías: materia orgánica disuelta (expresada en forma de parámetros generales como Demanda Química de Oxígeno –DQO- o Carbono Orgánico Total –COT-), componentes



inorgánicos ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ), metales pesados (Fe, Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn) y compuestos xenobióticos (Hidrocarburos poliaromáticos –PAHs-, o fenoles) [Kjeldsen y col., 2002]. La composición del lixiviado de un vertedero depende de los residuos depositados en él pero no es constante en el tiempo, sino que varía a lo largo de la vida del vertedero. En la tabla 5.6 se reflejan los datos de composición típicos para un vertedero joven (menor de un año de edad) uno de edad intermedia y uno envejecido [Kurniawan y col., 2005]. Se observa en la tabla que el lixiviado de un vertedero joven presenta un pH más ácido, tiene concentraciones elevadas de metales pesados y una mayor carga orgánica e inorgánica. Al ir envejeciendo el vertedero, se produce un aumento del pH del lixiviado y una disminución de la carga orgánica, lo que provoca una disminución de la concentración de metales pesados disueltos.

**Tabla 5.6.** Composición característica de los lixiviados según la edad del vertedero.

Tipo de lixiviado	Joven	Intermedio	Envejecido o estable
Años del vertedero	< 1	1 a 5	> 5
pH	< 6.5	6.5 a 7.5	> 7.5
DQO ( $\text{g L}^{-1}$ )	> 15	3 a 15	< 3
$\text{N-NH}_3$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	< 400	En torno a 400	> 400
Metales pesados ( $\text{mg L}^{-1}$ )	> 2	< 2	< 2

Analizando este tipo de muestra tan compleja, se puede comprobar la capacidad de los electrodos serigrafados para el análisis de muestras acuosas de alto contenido en contaminantes orgánicos e inorgánicos. La muestra analizada procede de un vertedero clausurado sito en la Comunidad de Madrid, y que está catalogado como *estable* por su antigüedad.

Se llevó a cabo la medida de la concentración de cromo en la muestra empleando distintas metodologías. El cromo total se determinó mediante Espectroscopía de Absorción Atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) mientras que la concentración de cromo (VI) se determinó mediante Espectrofotometría UV-visible y potenciometría directa en flujo empleando el sensor SP-DPCI. Al igual que en el análisis de cromo en sedimentos, la medida

espectrofotométrica requirió la eliminación de la materia orgánica que da el color a la disolución mediante un pretratamiento con resina adsorbente XAD-8. La concentración de cromo (III) en la muestra se determinó por diferencia entre la concentración de cromo total y de cromo (VI) obtenida por el método espectrofotométrico. Además las concentraciones de cromo hexavalente y trivalente también se determinaron empleando el bisensor.

En la tabla 5.8 se reflejan los resultados obtenidos, para el lixiviado de la Comunidad de Madrid, con todas las metodologías empleadas. Se puede observar que la cantidad de cromo hexavalente en la muestra determinada por las técnicas espectrofotométrica y potenciométricas es igual ( $P= 0.05$ ) lo que corrobora la capacidad del sensor y del bisensor para llevar a cabo la determinación con adecuada sensibilidad y selectividad en muestras complejas. En el análisis mediante espectroscopía atómica se obtiene una concentración de analito total similar a la obtenida para cromo hexavalente. De hecho, el valor de la desviación estándar obtenido en el cálculo por diferencia de la concentración de cromo (III) es mayor que el del valor medio de la concentración, por lo que el cromo (III) no puede ser detectado en esta muestra. Cuando se realiza la determinación con el bisensor se obtiene el mismo resultado. Este resultado indica que el cromo, en este lixiviado concreto, se encuentra en su forma más oxidada, seguramente como resultado de procesos de oxidación a lo largo del tiempo que tiene de antigüedad el vertedero.

**Tabla 5.8.** Especiación de cromo en la muestra de lixiviado de un vertedero mediante la aplicación de diferentes técnicas de análisis.

	ETAAS	Espectrofotometría UV-Visible	Potenciometría en FIA SP-DPCI	Potenciometría en FIA BISENSOR
Concentración de Cromo total, $\text{mg L}^{-1}$	$0.56 \pm 0.05$	—	—	—
Concentración de Cromo (VI), $\text{mg L}^{-1}$	—	$0.54 \pm 0.03$	$0.53 \pm 0.05$	$0.54 \pm 0.03$
Concentración de Cromo (III), $\text{mg L}^{-1}$		$0.02 \pm 0.06^*$	—	No detectable

\* Calculado por diferencia entre los valores obtenidos mediante ET-AAS y espectrofotometría UV-Visible

Con el fin de caracterizar la capacidad del bisensor para determinar la concentración de ambas especies de cromo en una muestra real compleja, una alícuota del lixiviado del vertedero se fortificó con  $10.0 \text{ mg L}^{-1}$  de cromo (III). Los resultados obtenidos cuando se realiza el análisis en continuo de la muestra de lixiviado fortificada empleando el bisensor son una concentración de cromo (VI) de  $0.53 \pm 0.03 \text{ mg L}^{-1}$  y de cromo (III) de  $9.91 \pm 0.22 \text{ mg L}^{-1}$ . Estas concentraciones son muy similares a las esperadas para ambas especies, por lo que puede llevarse a cabo con adecuada exactitud la determinación simultánea de cromo hexavalente y trivalente en muestras reales con matrices complejas.



## 6. CONCLUSIONES



## 6. CONCLUSIONES.

En la memoria que se presenta se describe la preparación de diversos materiales compuestos y su utilización en el desarrollo de sensores potenciométricos para el análisis de cromo en sus estados de oxidación (VI) y (III). Estos materiales se han construido modificando, con dos reactivos orgánicos, materiales compuestos de carbón que utilizan como aglutinante tanto aceite de parafina (pasta de carbono) como material polimérico epoxi.

Una vez considerados los resultados expuestos en esta memoria pueden resaltarse las conclusiones que se recogen en este capítulo final.

1. Se ha demostrado la eficacia de los compuestos Di(2-hidroxifenilimino)etano (DHPE) y 1,5-difenilcarbazida (DPCI) como modificadores selectivos para el desarrollo de sensores potenciométricos de materiales compuestos de carbono para el análisis de las especies trivalente y hexavalente de cromo, respectivamente.
2. En relación con la composición de los materiales compuestos de carbón, tanto para los sensores de pasta de carbón como para los de material polimérico los resultados óptimos se obtienen cuando la relación en masa modificador : grafito es de 1 : 3.
3. Todos los tipos de membranas compuestas desarrolladas, tanto las basadas en la modificación de pasta de carbón como las preparadas con material polimérico epoxi, han probado ser robustos, económicos, fáciles de construir y presentan respuestas reproducibles. En concreto, podemos resaltar que
  - El material polimérico otorga una mayor selectividad al sensor potenciométrico, debido a la menor capacidad para la adsorción de los metales interferentes en su superficie.
  - Los sensores desarrollados para cromo (VI) muestran intervalos de respuesta lineal y límites de detección comparables. Sin embargo, el sensor de pasta de carbón desarrollado para la determinación de cromo trivalente presenta un límite de detección mucho más bajo (en casi dos órdenes de magnitud) que el obtenido con el sensor MP-DHPE.

- El material polimérico da lugar a un sensor más robusto con un tiempo de vida mayor que los electrodos de pasta de carbón modificados
4. Los sensores basados en pasta de carbón se han empleado con éxito para el análisis en flujo del cromo (VI) y cromo (III). Con ambos sensores se obtienen límites de detección e intervalos de respuesta lineales ligeramente peores que los obtenidos en las medidas en estático. En cambio, la respuesta potenciométrica a los analitos es mucho más selectiva en las medidas en flujo desapareciendo o disminuyendo, según el caso, el efecto interferente de los iones ensayados.
  5. Los materiales poliméricos modificados con DPCI y DHPE se han empleado para el desarrollo de dispositivos de análisis basados en electrodos serigrafiados para la determinación individual de cromo (VI) o cromo (III) y para el análisis simultáneo de ambas especies. Los dispositivos se construyen recubriendo con el material polimérico correspondiente el electrodo de trabajo de electrodos serigrafiados comerciales. El empleo de estos dispositivos permite reducir el volumen de muestra necesario para el análisis en estático a solamente 0.200 mL

Los sensores serigrafiados presentan características analíticas similares a las obtenidas para los mismos tipos de membranas en electrodos convencionales, excepto el sensor SP-DPCI, que presenta un mejor límite de detección para medidas en estático.

El bisensor basado en tecnología de serigrafiado permite la determinación simultánea de cromo (VI) y cromo (III) en mezclas. Es el primer dispositivo potenciométrico que permite el análisis directo y simultáneo de ambas especies.

6. Los sensores descritos a lo largo de esta memoria se han utilizado con éxito en la determinación de la concentración de los estados de oxidación trivalente y hexavalente del cromo mediante potencimetría directa en muestras reales de matrices muy diversas tanto en sistemas de análisis en estático como en continuo. También se han empleado como electrodos indicadores de valoraciones potenciométricas
- El sensor PC-DHPE se ha empleado con óptimos resultados en el control de cromo (III) en residuos industriales mediante potencimetría directa en estático y en flujo. La presencia de cromo (VI) en este tipo de muestras



hace que las medidas en flujo sean más efectivas que las medidas en estático.

- La respuesta a cromo (VI) de los sensores PC-DPCI y MP-DPCI no se ve afectada por la presencia de especies altamente absorbentes en la muestra. Comparado con el método espectrofotométrico empleado habitualmente en la determinación del cromo (VI) donde previamente deben eliminarse estas especies, el empleo de estos sensores presenta una gran ventaja al no ser necesario el pretratamiento de la muestra.
- El sensor SP-DPCI se ha empleado en la determinación de cromo en aguas destinadas al consumo humano comprobándose su capacidad para detectar al analito dentro de los parámetros de calidad que implica la legislación vigente.
- La determinación del contenido en cromo (VI) y cromo (III) en una muestra compleja como es el lixiviado de un vertedero se ha llevado a cabo empleando el sensor SP-DPCI y el bisensor. Los resultados obtenidos se comparan con los obtenidos mediante métodos espectrofotométricos, no observándose diferencias significativas entre los resultados confirmando la correcta aplicación de los sensores en el análisis de cromo en muestras complejas.







## 7. BIBLIOGRAFÍA



---

**BIBLIOGRAFÍA**

Abbas M.N. y Mostafa G.A.E. (2003) *Analytica Chimica Acta* 478, 329

Abbas M.N.E. (2003) *Analytical Sciences* 19, 229

Abbaspour A. y Izadyar A. (2001) *Talanta* 53, 1009

Abbaspour A., Mirahmadi E., Khalafi-nejad A. y Babamohammadi S. (2010) *Journal of Hazardous Materials* 174, 656.

Adams R.N. (1958) *Analytical Chemistry* 30, 1576

Adhoum N., Monser L., Sadok S., El-Abed A., Greenway G. M. y Uglow R. F. (2003) *Analytica Chimica Acta* 478, 53

Akl M.A., Ghoneim A. K., Abd E.A. y Mohammed H. (2006) *Electroanalysis* 18, 299

Albareda M., Merkoci A. y Alegret S. (2001) *Sensors & Actuators B* 79, 48.

Alegret S., Céspedes F., Martínez-Fábregas E., Martorell D., Morales A., Centelles E. y Muñoz J. (1996) *Biosensors and Bioelectronics* 11, 35

Alegret S., Valle M. y Merkoci A. (2004) *Sensores electroquímicos*. Ed. Servicio de Publicaciones de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Alemu H. y Chandravanshi B.S. (1998) *Analytica Chimica Acta*, 368, 165

Alfaya A. A. S. y Gushike Y. (1999) *Journal of Colloid and Interface Science* 209, 428

Álvarez-Romero G. A., Morales-Pérez A., Rojas-Hernandez A., Palomar-Pardave M. y Ramírez-Silva M.T. (2004) *Electroanalysis* 16, 1236

American Public Health Association. (1985) *Standard methods for the examination of water and wastewater*, APHA-AWWA-WPCF.. 16ed. Washington

Amini M.K., Khorasani J.H, Khaloo S.S. y Tangestaninejad S. (2003) *Analytical Biochemistry* 320, 32

An H., Park Y. y Kim D. (2001) *Water Research* 35, 3551

- Anderson J.E. y Tallman D.E. (1976) *Analytical Chemistry* 48, 209
- Aono H. y Sadaoka Y. (2000) *Journal of the Electrochemical Society* 147, 4363
- Ardakani M.M., Dastanpour A. y Salavati-Niasari M. (2005) *Microchimica Acta* 150, 67
- Babko A. K. y Palii L. A. (1950) *Zhurnal Analiticheskoi Khimii* 5, 272
- Bakker E. y Pretsch E. (2007) *Angewandte Chemie* 46, 5660
- Bakker E., Pretsch E., Bühlmann P. (2000) *Analytical Chemistry* 72, 1127
- Baldwin R.P., Christensen J.K. y Kryger L. (1986) *Analytical Chemistry*, 58, 1790
- Barek J., Fischer J., Navratil T., Peckova K., Yosypchuk B. y Zima J. (2007) *Electroanalysis* 19, 2003
- Batley G.E. y Matousek J.P. (1980) *Analytical Chemistry* 52, 1570
- Berceloux D. G. (1999) *Clinical Toxicology*, 37, 173
- Berube T.R., Buck R.P., Linder E., Gratzl M. y Pungor E. (1989) *Analytical Chemistry* 61, 453
- Bidan G. (1992) *Sensors & Actuators B* 6, 45.
- Bobacka J. (2006) *Electroanalysis* 18, 7
- Bobacka J., Ivaska A. y Lewenstam A. (2008) *Chemical Reviews* 108, 329
- Bobrowski A., Bús B., Dominik J., Nicwiara E., Szalinska E., Vignati D. y Zarebski J. (2004) *Talanta* 63, 1003.
- BOLR, 2007: Boletín Oficial de La Rioja de 18-1-2007 pág 350 nº9
- Borai E. H., El-Sofany E.A., Abdel-Halim A.S. y Soliman A.A. (2002) *Trends in Analytical Chemistry* 21, 741
- Buck R. P. y Lindner E. (1994) *Pure Applied Chemistry* 66, 565



- Buffle, J. (1998) "*Complexation Reactions in Aquatic Systems. An Analytical Approach.*" John Wiley and Son. Ellis Horwood Limited, pag 411, 427-456.
- Burriel F., Lucena F., Arribas S. y Hernández J. (1983). '*Química Analítica Cualitativa*'. Paraninfo.
- Cai Q. y Khoo S.B. (1995) *The Analyst*, 120, 1 047
- Cazeneuve M.P. (1900) *Bulletin de la Societe Chimique de France* 23, 701.
- Céspedes F., Martínez-Fábregas E. y Alegret S. (1996) *Trends in Analytical Chemistry* 15, 296.
- Chandrasekhar P. (1999) '*Conducting Polymers, Fundamentals and Applications: A practical approach*' Kluwer Academic. Boston.
- Choi Y. W. y Moon S. H. (2001) *Environmental Monitoring Assessment* 70, 167.
- Choi Y.W., Minoura N. y Moon S.H. (2005) *Talanta* 66, 1254
- Chomchoci R., Miró M., Hansen E.H. y Shiowatana J. (2005) *Analytical Chemistry* 77, 2720.
- Colilla M., Mendiola M.A., Procopio J.R. y Sevilla M.T. (2005-A) *Electroanalysis* 17, 933
- Colilla M., Darder M., Aranda P. y Ruiz-Hitzky E. (2005-B) *Journal of Materials Chemistry* 15, 3844
- Cox J.A. y Lewinski K. (1994) *Electroanalysis*, 6, 976
- Craston D., Jones C., Williams D. y El Murr N. (1991) *Talanta* 38, 17
- Creasy K.E. y Shaw B.R.. (1989) *Analytical Chemistry* 61, 1460
- Currie L.A. (1997) *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 37, 151
- Das Sarma B. y Ray J.N. (1956) *Science and culture* 21, 477
- Dogutan M., Filik H. y Tor I. (2003) *Talanta* 59, 1053
- Domínguez O., Sanllorente S. y Arcos M.J. (1999) *Química Analítica (Barcelona)* 18, 143

- Domínguez Renedo O., Alonso-Lomillo M.A. y Arcos Martín M.J. (2007) *Talanta* 73, 202.
- Dürselen L.F., Wegman D., May K., Oesch U. y Simon W. (1998) *Analytical Chemistry* 60, 1455
- Elif Kormali Erturun H., Yilmaz M. y Kilic Esma. (2007) *Sensors & Actuators B* 127, 497
- El-Shatoury S. (1995) *High performance polymers* 74, 33.
- Engstrom R.C., Weber M. y Werth J. (1985) *Analytical Chemistry* 57, 933
- Erol S., Ozel A. D., Yilmaz M. y Kilic E. (2009) *Reviews in Analytical Chemistry* 28, 27
- Ersoz A., Gavalas V.G. y Bachas L.G. (2002) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 372, 786
- Fakhari A. R., Termeh A. y Naeimi H. (2005) *Sensors and Actuators: B* 104, 317
- Filgueiras A. V., Lavilla I. y Bendicho C. (2002) *Journal of Environmental Monitoring* 4, 823
- Fiol N., De la Torre F., Demeyere P., Florido A. y Villaescusa I. (2007) *Sensors & Actuators B* 122, 187
- Fleet B. y Little C.J. (1974) *Journal of chromatography sciences* 12, 747
- Frenzel I., Holdik H., Stamatialis D.F., Pourcelly G. y Wessling M. (2005) *Journal of Membrane Science* 261, 49.
- Frenzel I., Stamatialis D. F. y Wessling M. (2006) *Separation and purification technology* 49, 76.
- Fries J. y Getrost H. (1977) '*Organic Reagents for Trace Analysis*'. Merck.
- Gadzekpo V.P.Y. y Christian G.D. (1984) *Analytica Chimica Acta*, 164, 279
- Galán Vidal C.A., Muñoz J., Domínguez C. y Alegret S. (1998) *Sensors & Actuators B* 52, 257
- Gallardo J., Alegret S., Muñoz R., De Román M., Lejía L. y Del Valle M. (2003) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377, 248

- Gallardo J., Alegret S., Muñoz R., Lejia L. y Del Valle M. (2005) *Electroanalysis* 17, 348
- Ganjali M. R., Norouzi P., Faridbod F., Ghorbani M. y Adib M. (2006) *Analytica Chimica Acta* 569, 35
- Ganjali M.R., Emami M., Salavati-Niasari M. y Yousefi M. (2003) *Analytical Letters* 36, 2735
- Ganjali M.R., Mizani F., Salavati-Niasari M. y Javanbakth M. (2003-B) *Analytical Sciences* 19, 235
- Gao Z., Zhov X., Wang G., Li P. y Zhao Z. (1991) *Analytica Chimica Acta* 244, 39
- García Dávila V., Ángeles G. A., Rojas-Hernández A., Ramírez-Silval M.T., Palomar-Pardave M.E., y Romero-Romo M.A. (2007) *ECS Transactions* 3, 87
- Geering H.R. y Hodgson J.F (1996) *Journal Associaton of Official Analytical Chemists* 49, 1057
- Ghaedi M., Shojaie A. F., Montazerozohori M., Karami B. y Gharaghani S. (2005) *Electroanalysis* 17, 1746
- Gholivand M. B., Mohammadi M., Khodadadian M. y Rofouei M. K. (2009) *Talanta* 78, 922
- Gholivand M. B. y Raheedayat F. (2004) *Electroanalysis* 16, 1330
- Gismera M. J., Arias S., Sevilla, M. T. y Procopio Jesús R. (2009) *Electroanalysis* 21, 979
- Gismera M. J., Hueso D., Procopio Jesús R. y Sevilla M. Teresa. (2004) *Analytica Chimica Acta* 524, 347
- Gismera M. J., Procopio Jesús R. y Sevilla M. Teresa, Hernández L. (2003) *Electroanalysis* 15, 126
- Gismera M. J., Sevilla M. Teresa y Procopio Jesús R. (2006) *Analytical Sciences* 22, 405
- Gjerde D.T., Wiederin D.R., Smith F.G. y Mattson B.M. (1993) *Journal of Chromatography A* 640, 73-78
- Gleyzes C., Tellier S. y Astruc M., (2002) *Trends in Analytical Chemistry* 21, 451

- Godovski D.Y., Koltypin E.A., Volka A.V. y Moskvina M.A. (1993) *Analyst* 118, 997
- Gonzalez P.S., Montan C.A. y Cortínez V.A. (1997) *Talanta* 44, 23
- González-Bellavista A., Macanás J., Muñoz M. y Fábregas E. (2006) *Sensors & Actuators B* 115, 691
- Grabarczyk M. (2002) *Microchemical Journal* 72, 103
- Guilbaut G. G., (1979) IUPAC Inf. Bull. Nº 1, 1978 p.69; *Ion selective Electrodes Reviews* 1, 139
- Gupta V.K., Jain A.K., Kumar P., Agarwal S. y Maheshwari G. (2006) *Sensors & Actuators B* 113, 182
- Hamilton JH y Wetterhahn KE. (1987) '*Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*'. Marcel Dekker, Inc. New York
- Hassan S.S.M., Abbas M.N. y Moustafa G.A.E. (1996) *Talanta* 43, 797
- Hassan S.S.M., Elnemma E.M. y Mohamed Ayman H.K. (2005-A) *Electroanalysis* 17, 2246
- Hassan S.S.M., El-Shahawi M.S., Othman A.M. y Mosaad M.A. (2005-B) *Analytical Sciences* 21, 673
- Health and safety executive. (1977) *Chromium Health and Safety Precautions* Guidance Note EH2. London.
- Heb Y., Cervera M.L., Pastor A. y de la Guardia M. (2001) *Analytica Chimica Acta* 447, 135.
- Henriques H.P. y Fogg A.G. (1984) *Analyst* 109, 1195
- Hernández P.S., Ángeles G. A., Hernández A. R., Ramírez-Silval M.T., Romero Romo M. y Palomar-Pardave M. (2005) *Applications of Analytical Chemistry in Environmental Research* 2, 61
- Hlavay J., Prohaska T., Weisz M., Wenzel W. W. y Stingeder G. J. (2004) *Pure and Applied Chemistry* 76, 1415

- Hopirtean E., Liteanu C. y Vlad R. (1975) *Talanta* 22, 912.
- Hu X. y Leng Z. (1995) *Analytical Letters* 28, 2263
- Hu X.X. y Leng Z.Z. (1996) *Analytical Communications* 33, 297
- Hunt D.T.E. y Wilson A.L. (1986) "The chemical Analysis of Water". *The Royal Society of Chemistry*.
- Hwang I., Batchelor B. , Schlautman M. A. y Wang R. (2002) *Journal of Hazardous Materials* 92, 143
- ISO 11843-1. *Capability of detection. Part 1: Terms and definitions*. ISO, Genève, 1997
- IUPAC, (1976) *Pure & Applied Chemistry* 48, 127
- IUPAC. (1998) *Pure & Applied Chemistry* 70, 1301
- IUPAC. (1995) *Pure & Applied Chemistry* 67 1699
- Jain A.K., Singh L.P. y Jain P.K. (1995) *Sensors & Actuators B* 25, 729.
- Janson C. E., Kenson R. E. y Tucker L. H. (1982) *Environmental Progress* 1, 212
- Jeong T., Lee H. K., Jeong D. y Jeon S. (2005) *Talanta* 65, 543
- Jezkova J., Musilova J. y Vytras K. (1997) *Electroanalysis*. 9, 1433
- Kabir-Ud-Din, Khaled H. y Zaheer K. (2001) *International Journal of Chemical Kinetics* 33, 377
- Kamel A. H. (2007) *Electroanalysis* 19, 2419
- Karami H., Mousavi M.F. y Shamsipur M. (2003) *Talanta* 60, 775
- Khaled E., Mohamed G.G. y Awad T. (2008) *Sensors & Actuators B* 135, 74
- Khalil F., Morteza B., Donya S. y Floria S. (2008) *Talanta* 76, 320
- Kissinger P.T. (1983) *Journal of Chemicals education* 60, 308
- Kjeldsen P., Barlaz M.A., Rooker A.P., Baun A., Ledin A. y Christensen T.H. (2002) *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 32, 297

- Klatt L.N., Connell D.R., Adams R.E., Honigberg IL. y Price J.C. (1975) *Analytical Chemistry* 47, 2470
- Klavins M., Eglite L y Serzane J. (1999) *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 29, 187
- Kormali H. E., Yilmaz M. y Kiliç E. (2007) *Sensors & Actuators B* 127, 497
- Koryta J. y Stulik K. (1983) *"Ion Selective Electrode"*. Cambridge University Press 2ª Edición
- Kurniawan T.A., Lo W. y Chan G. (2005) *Journal of Hazardous Materials* 129, 80
- Labuda J., Buckova M. y Halamova L. (1997) *Electroanalysis* 9, 1129
- Labuda J. y Hudakova M. (1997) *Electroanalysis* 9, 239
- Lan Q., Shanhong X., Chao B., Jizhou S. y Jinghong H. (2009) *Biosensors and Bioelectronics* 24, 3419
- Li J., Le S., Li Q. y Zhang X. (2009) *Electroanalysis* 21, 831
- Liberti A. y Morgia C. (1985) *Analytica Chimica Acta* 173, 157
- Liechtensteil I.E. y Allen T.L. (1961) *Physical Chemistry* 65, 1238
- Linder E., Tóth K. y Pungor E. (1986) *Pure & Applied Chemistry* 58, 469
- Llobat-Estelles M., Mauri-Aucejo A.R. y Lopez-Catalan M.D. (2001) *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 371, 358
- Lubal P., Siroky D., Fetsch D. y Havel J. (1998) *Talanta* 47, 401
- Luoma S. (1983) *Science of the Total Environment* 2, 81
- Ma Y., Yuan R., Chai Y. y Liu X. (2009) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395, 855
- Macca C. (2004) *Analytica Chimica Acta* 512, 183
- Magalhaesa J. M., Silvaa J. E., Castroa F. P. y Labrincha J.A. (2005) *Journal of Environmental Management* 75, 157
- Malakhova N.A., Chernysheva A.V. y Brainina K.Z. (1991) *Electroanalysis* 3, 803

- Maminska R., Dybko A. y Wróblewski W. (2006) *Sensors & Actuators B* 115, 552
- Marczenko Z. (1976) *'Spectrophotometric determination of elements'* Ellis Horwood, Inglaterra
- Martínez-Fábregas E. y Alegret S. (1994) *Journal of Chemical Education* 71, A67
- Martorell D., Cespedes F., Martínez-Fábregas E. y Alegret S. (1994) *Analytica Chimica Acta* 290, 343
- Mashhadizadeh M. H., Mostafavi A., Abadi H. Allah y Sheikh-shoai I. (2006) *Sensors & Actuators B* 113, 930
- Mashhadizadeh M. H., Sheikhshoae I. y Saeid-Nia S. (2005) *Electroanalysis* 17, 648
- Mesaric S. y Dahmen E. M. F. (1973) *Analytica Chimica Acta* 64, 431
- Moody G.J., Oke R. y Thomas J.D.R. (1970) *Analyst* 95, 910
- Moody G.J. y Thomas J.D.R. (1971) *Selective Ion Sensitive Electrodes*. Merrow Technical Library, Watford
- Morales-Muñoz S., Luque-García J.L. y Luque de Castro M.D. (2004) *Analytica Chimica Acta* 512, 343
- Mousavi M.F., Rahmani A., Golabi S.M., Shamsipur M. y Sharghi H. (2001) *Talanta* 55, 30
- Mousavi Z., Bobacka J. y Ivaska A. (2005) *Electroanalysis* 17, 1609
- Muñoz J., Gallego M. y Valcárcel M. (2005) *Analytica Chimica Acta* 548, 66
- Murray R.W. (1984) *'Chemical Modified Electrode'* vol 13 de *Electroanalytical Chemistry* (Bard A.J.) Marcel Dekker, New York
- Muxel A., De Jesús D. A., Alfaya R. V. S. y Alfaya A. A. S. (2007) *Journal of Brazilian Chemical Society* 18, 572
- Navratil T. y Barek J. (2009-B) *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 39, 131
- Navratil T., Barek J. y Fasinova-Sebkova S. (2009-A) *Electroanalysis* 21, 309

- Navrátilová Z. (1991) *Electroanalysis* 3, 799
- Nesligül G. D., Meral K., Levent A. y Mehmet S. (2009) *Materials Chemistry and Physics* 118, 93
- Nic M., Jirat J. y Kosata B. (2009) *IUPAC Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)* versión electrónica 2.1.5. <http://goldbook.iupac.org>
- NTP: National Toxicology Program. (2000) *Chromium Hexavalent compounds, Ninth Report on carcinogens*, NTP, Department of Health and Human services.
- Ortiz-Viana M.M., da Silva M.P., Agraz R., Procopio J.R., Sevilla M.T. y Hernandez L. (1999) *Analytica Chimica Acta* 382, 179
- Ortuno J.A., Sánchez-Pedreno C., Hernández J. y Oliva D. J. *Talanta* 65(2005)1190
- Paczosa B., Blaz T., Migdalski J. y Lewenstam A. *Polish Journal of Chemistry* 78 (2004) 1543]
- Palkologos E.K., Stalikas C.D. y Karayannis M.I. (2001) *Analyst* 126, 389
- Paniagua A.R., Vazquez M.D., Tascon M.L. y Sanchez Batanero P. (1993) *Electroanalysis* 5, 155
- Pantel S. (1987) *Analytica Chimica Acta* 203, 91
- Park J. y Shaw B.R. (1989) *Analytical Chemistry* 61, 848
- Pawlisz A.V., Kent R.A., Schneider U.A. y Jefferson C. (1997) *Environmental Toxicology and Water Quality* 12, 123
- Pei J.H., Yin Q. y Zhong J.Y. (1991) *Talanta* 38, 1185
- Pettine M. y Capri S. (2005) *Analytica Chimica Acta* 540, 239
- Pettine M. y Capri S. (2005) *Analytica Chimica Acta* 540, 239
- Pobozyl E., Knell M., Kilian K., Kataký R. y Trojanowicz M. (2003) *Electrophoresis* 24, 2735
- Prasad A.S. y Oberleas D. (1976) *Trace Elements in Human Health and Disease* Academic Press, New York



- Prasad K., Praveen R.S., Rao T.P., Gopikrishna P. y Naidu G.R.K. (2005) *Atomic Spectroscopy* 26, 173
- Pretsch E. (2007) *Trends in Analytical Chemistry* 26, 46
- Quintar S. E., Santagata J. P. y Cortinez V. A. (2005) *Talanta* 67, 843
- Rajesh N., Jalan R. K. y Hotwany P. (2008) *Journal of Hazardous Materials* 150, 723
- Rajeshwar K., Ibanez J. (1997) *Environmental Electrochemistry. Fundamentals and Applications in Pollution Abatement*. Academic Press
- RD, 2003: Real Decreto de 140/2003, de 7 de Febrero
- Rudoi, V. M., Makarenko M. Yu., Novikov, A. E. y Yaroslavtseva O. V. (1998) *Journal of Analytical Chemistry* 53, 144
- Ruiperez J., Mendiola M.A., Sevilla M.T., Procopio J.R. y Hernandez L. (2002) *Electroanalysis* 14, 532
- Ruschan G.R., Newnham R.E., Runt J. y Smith E. (1989) *Sensors & Actuators: B* 20, 269
- Ruzicka J. y Hansen E. H. (1975) *Analytica Chimica Acta* 78, 145
- Rzewuska A., Wojciechowski M., Bulska E., Hall E. A. H., Maksymiuk K. y Michalska A. (2008) *Analytical Chemistry* 80, 321
- Safavi A., Pakniat M. y Maleki N. (1996) *Analytica Chimica Acta* 335, 275
- Sahayam A.C. (2002) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 372, 840
- Sahuquillo A., Rigol A. y Rauret G. (2003) *Trends in Analytical Chemistry* 22, 152
- Salah E.S. (1995) *High Performance Polymers* 7, 433
- Sánchez-Fernández M.E., Cubillana-Aguilera L.M., Palacios-Santander J.M., Naranjo-Rodríguez I. y Hidalgo-Hidalgo de Cisneros J.L. (2005) *Bulletin of Electrochemistry* 21, 529
- Scindia Y. M., Pandey A.K., Reddy A.V.R. y Manohar S.B. (2002) *Analytical Chemistry* 74, 4204

- Scott S. M., James D. y Ali Z. (2007) *Microchimica acta* 156, 183
- Shamsipur M., Tashkhourian J., Hemmateenejad B. y Sharghi H. (2004) *Talanta* 64, 590
- Shamsipur M., Ershad S., Naser S., Moghimi A. y Aghabozorg H. (2005-A) *Journal of Solid State Electrochemistry* 9, 788
- Shamsipur M., Soleymanpour A., Akhond M., Sharghi H. y Sarvari M. H. (2005-B) *Electroanalysis* 17, 776
- Sharma R.K. y Goel A. (2005) *Analytica Chimica Acta* 534, 137
- Shoji E. y Freund M.S. (2002) *Journal of the American Chemical Society* 124, 12486
- Sil A., Ijeri V. y Srivastava A. (2004) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378, 1666
- Silber A., Bräuche C. y Hampp N. (1995) *Journal of Electroanalytical Chemistry* 390, 83
- Singh A. K., Gupta V. K. y Gupta B. (2007) *Analytica Chimica Acta* 585, 171
- Singh A. K., Singh L. P. y Bhattacharjee G. (2009) *Talanta* 80, 685
- Singh A.K., Singh R. y Saxena P. (2004) *Sensors* 4, 187
- Singh L. P., Bhatnagar J. M., Tanaka S., Tsue H. y Mori M. (2005) *Analytica Chimica Acta* 546, 199
- Sirven J. B., Bousquet B., Canioni L., Sarger L., Tellier S., Poti-Gautier M. y Le Hecho I. (2006) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385, 256
- Sjöberg-Eerola P., Bobacka J., Sokalski T., Mieczkowski J., Ivaska A. y Lewenstam A. (2004) *Electroanalysis* 16, 379
- Skladal P. y Mascini M. (1992) *Biosensors and Bioelectronics* 7, 335
- Skoog D.A. y Leary J.J. (1994) *Análisis instrumental*. McGraw Hill
- Srinivasan K. y Rechnitz G. A. (1969) *Analytical Chemistry* 4,1 1203
- Stevens M. P. (1999) *'Polymer Chemistry. An introduction'* Oxford University Press, New York

- Svancara I., Vytras K., Kalcher K., Walcarius A. y Wang J. (2009-A) *Electroanalysis* 21, 7
- Svancara I., Walcarius A., Kalcher K. y Vytras K. (2009-B) *Central European Journal of Chemistry* 7, 598
- Tallman D.E. y Peterson S.L. (1990) *Electroanalysis* 2, 499
- Teixeira M.F.S., Cavalleiro T.G.E., Bergamini F.M., Moraes F.C. y Bocchi N. (2004) *Electroanalysis* 16, 633
- Themelis D.G., Kika F.S. y Economou A. (2006) *Talanta* 69, 615
- Trinder N. (1966) *Analyst* 91, 587
- Tsogas G.Z., Giokas D.L., Vlessidis A.G. y Evmridis N.P. (2004) *Spectrochimica Acta Part B* 59, 957
- Ugural A. C. y Fenster S. K. (1987) '*Advanced Strength and Applied Elasticity*' New York, Elsevier
- Umezawa Y., Bühlmann P., Umezawa K., Tohda K., y Amemiya S. (2000) *Pure and Applied Chemistry* 72, 1851
- Unceta N., Séby F., Malherbe J. y Donard O. F. X. (2010) *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397, 1097
- UE, 1998: Directiva 98/83/CE, de 3 de Noviembre de 1998 de la Unión Europea
- US EPA: United States Environmental Protection Agency (1982). *Test Methods for Evaluating Solid Wastes, Physical/Chemical Methods. SW-846*, Second Edition. Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.
- US EPA (1990). *Physical/Chemical Methods, Method 7196, Test Methods for evaluating solid waste*, US Government Printing Office, Washington DC.
- US EPA (1994). *Methods for the determination of Metals in Environmental Samples*.
- US EPA (1995). *Alkaline Digestion of Hexavalent Chromium, Method 3060A*, in Test Methods for Evaluating Solid Waste - Physical/Chemical Methods, SW-846, update 3. Government Printing Office, Washington

- Valcárcel Cases M. y Luque de Castro M.D. (1984) '*Análisis por Inyección en Flujo*'. Dpto. de Química Analítica de la Universidad de Córdoba, Publicaciones del Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba
- Vissers B., Bohets H., Everaert J., Cool P., Vansant E. F., Du Prez F., Kauffmann J. M. y Nagels L. J. (2006) *Electrochimica Acta* 51, 5062
- Vytras K., Khaled E., Jezkova J., Hassan H.N.A. y Barsoum B.N. (2000) *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 367, 203
- Wang C., Zhu B. y Li H. (1999) *Electroanalysis* 11, 183
- Wang J. y Chen L. (1991) *Analytical Chemistry* 63, 1499
- Wang J. y Tian B. (1992) *Analytical Chemistry* 64, 1706
- Wang J., Greene B. y Morgan C. (1984) *Analytica Chimica Acta* 158, 15
- Wang J., Taha Z. y Naser N. (1991) *Talanta* 38, 81
- Wang J.S. y Chiu K. (2004) *Analytical Sciences* 20, 241
- Willems G.J. y De Ranter C.J. (1974) *Analytica Chimica Acta* 68, 111
- Willems G.J., Blaton N.M., Peeters O.M y De Ranter C.J. (1977) *Analytica Chimica Acta* 88, 345
- Won M.S., Moon P.W. y Shim Y.B. (1995) *Electroanalysis* 7, 1171
- Wring S. y Hart J. (1992) *Analyst* 117, 1281
- Wring S., Hart J., Bracey L. y Birch B. (1990) *Analytica Chimica Acta* 231, 203
- Yamada E., Kuwamoto T., Fujinaga T. y Nakayama E. (1982) *Analytica Chimica Acta* 138, 409
- Zamani H. A., Rajabzadeh G. y Ganjali M. R. (2006) *Sensors & Actuators B* 119, 41
- Zayed S.I.M. (2004) *Analytical Sciences* 20, 1043
- Zhang S., Wang S., Shan X. (2002) *Journal of Environmental Science Health* 37, 465

Zhou W., Chai Y., Yuan R., Guo J. y Wu X. (2009) *Analytica Chimica Acta* 647, 210